



Fosfatasas Alcalina

optimizada

Para la determinación de la actividad de fosfatasa alcalina en suero

SIGNIFICACION CLINICA

La fosfatasa alcalina es una enzima ampliamente distribuida en el organismo. Hidroliza los monoésteres del ácido ortofosfórico en medio alcalino.

En el adulto proviene en parte del hígado (fracción termoestable) y en parte del hueso, sistema reticuloendotelial y vascular (fracción termolábil), dando lugar a distintas isoenzimas. La actividad sérica de fosfatasa alcalina ósea, en condiciones normales, alcanza su mayor actividad en los niños en edad de crecimiento (llegando a triplicar los niveles del adulto) debido a que esta isoenzima se localiza en los osteoblastos (relacionados con la calcificación y formación de estructuras óseas). También es fisiológico el aumento que se produce al final del primer trimestre del embarazo, a expensas de la isoenzima placentaria que en este período alcanza niveles máximos (aproximadamente el doble de los valores normales). Entre las patologías que afectan la actividad sérica de fosfatasa alcalina, se pueden citar: carcinomas metastásicos en hígado y en hueso (productores de enzima), colestasis biliar, fenómenos osteoblásticos, trastornos de malabsorción acompañados de lesiones ulcerosas (donde la deficiencia de vitamina D produce osteomalacia con el consecuente aumento de fosfatasa alcalina ósea) e incluso lesiones en vías de reparación tales como infarto agudo de miocardio, infarto pulmonar o renal.

FUNDAMENTOS DEL METODO

La fosfatasa alcalina desdobra al fenilfosfato de sodio en medio alcalino tamponado con aminometil propanol (AMP). El fenol liberado se determina por reacción con 4-aminoantipirina y ferricianuro como agente oxidante. El color desarrollado es directamente proporcional a la actividad enzimática y se mide a 520 nm.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: 4-aminoantipirina 29 mmol/l en solución de aminometil propanol 3 mol/l.

B. Reactivo B: fenilfosfato de sodio, 1,4 mmoles.

C. Reactivo C: ferricianuro de potasio, 10 mmol/l.

S. Standard: solución de fenol equivalente a 200 UI/l.

REACTIVOS NO PROVISTOS

Agua destilada.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivo A; preparación: transferir el contenido del frasco de Reactivo B volcándolo directamente en el frasco de Reactivo A y mezclándolo hasta disolución completa (concentración final 14 mM). Anotar en el rótulo la fecha de preparación.

Reactivo C; preparación: disolver el contenido del envase en 500 ml de agua destilada. Rotular y colocar fecha de preparación.
Standard: listo para usar.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

Reactivo C y Standard: H301 + H311 + H331: Tóxico en caso de ingestión, contacto con la piel o inhalación. H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. P262: Evitar el contacto con los ojos, la piel o la ropa. P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir enjuagando. P302 + P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Los **Reactivos Provistos** son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Reactivo A reconstituido: estable durante 5 meses en refrigerador (2-10°C).

Reactivo C: una vez preparado es estable durante 5 meses a temperatura ambiente y al abrigo de la luz.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Valores de Blanco de reactivos mayores a 0,120 D.O. indican contaminaciones, debiéndose descartar los reactivos.

MUESTRA

Suero

a) Recolección: usar únicamente suero fresco, no hemolizado.

b) Aditivos: no se requieren.

c) Sustancias interferentes conocidas: los anticoagulantes producen inhibición de la reacción en un 50 a 90%. Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: si la determinación no puede ser efectuada en un plazo de 6 horas, la muestra debe conservarse congelada (-4°C) ya que a temperatura ambiente o en refrigerador (2-10°C) hay aumento de actividad de 30 a 50% en 24 horas.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro o fotocolorímetro.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Tubos.
- Probeta.
- Baño de agua a 37°C.
- Reloj o timer.

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 520 nm en espectrofotómetro o en fotocolorímetro con filtro verde (500-550 nm).
- Temperatura de reacción: 37°C
- Tiempo de reacción: 10 minutos
- Volumen de muestra: 50 ul
- Volumen final de reacción: 3,05 ml

PROCEDIMIENTO

En tres tubos marcados B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido) colocar:

	B	S	D
Reactivo A reconstituido	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml

Preincubar en baño de agua a 37°C unos minutos. Luego agregar:

Suero	-	-	50 ul
Standard	-	50 ul	-

Mezclar, incubar exactamente 10 minutos (cronómetro) y agregar:

Reactivo C	2,5 ml	2,5 ml	2,5 ml
-------------------	--------	--------	--------

Mezclar de inmediato cada tubo. Retirar los tubos del baño y leer en espectrofotómetro a 520 nm o en fotocolorímetro con filtro verde, llevando el aparato a cero de absorbancia con agua destilada.

ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL

El color de la reacción es estable durante 30 minutos por lo que la absorbancia debe ser leída dentro de ese lapso.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Fosfatasa alcalina (UI/l) = factor x (D-B)

$$\text{donde: factor} = \frac{200 \text{ UI/l}}{(S-B)}$$

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Si la muestra a ensayar es suero, procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con actividades conocidas de fosfatasa alcalina, con cada determinación.

VALORES DE REFERENCIA

Adultos: 68 - 240 UI/l

Niños: 100 - 400 UI/l

Nota: Debido al proceso osteoblástico, la isoenzima ósea se encuentra aumentada en la niñez y adolescencia (hasta los

18 años aproximadamente), proporcionando valores de fosfatasa alcalina más elevados que en los adultos, habiéndose observado valores de hasta 700 UI/l en niños sin patología que justificara un origen extraóseo de la enzima. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

Fosfatasa alcalina (UI/l) x 0,017 = Fosfatasa alcalina (ukat/l)

LIMITACIONES DE PROCEDIMIENTO

- Ver Sustancias Interferentes conocidas en MUESTRA.
- El tiempo y la temperatura de reacción son críticos. Un minuto o un grado en exceso o en defecto pueden producir un error de $\pm 10\%$.
- Contaminación con fenol: puede provenir del material de vidrio, de otros reactivos que lo contenga, o de las cañerías de PVC que suelen utilizarse para el trasvase del agua destilada. No deben usarse frascos que hayan contenido fenol (Reactivo 1 de **Uremia** de Wiener lab., Kunkel fenol, etc.) para preparar el Reactivo C.
- Debe leerse un Blanco de Reactivos con cada lote de determinaciones.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: procesando replicados de las mismas muestras en un mismo día, se obtuvo:

Nivel	D.S.	C.V.
35 UI/l	$\pm 1,75 \text{ UI/l}$	5,0 %
235 UI/l	$\pm 5,40 \text{ UI/l}$	2,4 %
500 UI/l	$\pm 6,00 \text{ UI/l}$	1,2 %

b) Linealidad: la reacción es lineal hasta 800 UI/l. A valores mayores, debe repetirse la determinación diluyendo la muestra 1:2 ó 1:5 con solución fisiológica de modo que los valores obtenidos se encuentren dentro del rango de linealidad. El resultado obtenido debe multiplicarse por la dilución efectuada.

c) Límite de detección: depende del fotómetro empleado. En espectrofotómetro (a 520 nm, con cubetas de caras paralelas de 1 cm de espesor, reproducibilidad $\pm 2 \text{ nm}$, luz espuria $\leq 0,5\%$, semiancho de banda $\leq 8 \text{ nm}$), para 0,001 D.O. el mínimo cambio de actividad detectable será de 1 UI/l.

PRESENTACION

Equipo para 200 determinaciones (Cód. 1361003).

BIBLIOGRAFIA

- Mc Comb, R.B.; Bowers, G.N. - Clin. Chem. 18/2:97 (1972).
- Bowers, G.N.; Mc Comb, R.B. - Clin. Chem. 21/13:1988 (1975).
- Pric, C.P.; Woodmn, D.D. - Clin. Chim. Acta 35/2:265 (1971).
- Conyers, R.A.; Birkett, D.J.; Neale, F.C.; Posen, S. and Brudenell-Woods, J - Biochim. Biophys. Acta 139:363 (1967).
- Skillen, A.W.; Harrison, J. - Clin. Chim. Acta 45:287 (1973).
- Kind, P.R.; King, E.J. - J. Clin. Path. 7:322 (1954).
- Demaría, L.; Setta, F.; Lorenzo, L.E. - VIII Congreso Argentino de Bioquímica, Rev. Asoc. Bioq. Arg. 54/3 (1990).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

Símbolos

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Cáustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control



Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo

Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Disp. N°: 1287/77 - 216/00



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina