

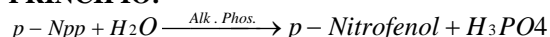
**REACTIVO PARA FOSFATASA ALCALINA****USO:**

Para la determinación cuantitativa de fosfatasa alcalina en suero humano.

**HISTORIA DEL METODO:**

La fosfatasa alcalina se determina midiendo la hidrólisis de varios esteres fosfóricos y que fué presentado como sustrato de Fujita en 1939.

Bessey Lowry y Brock, publicaron un procedimiento de punto firme en 1946, mientras Bower y McIomo reportaban un procedimiento científico en 1966. En 1974 el comité de Enzimas de la Sociedad de Química y Fisiología Clínica Escandinava adoptó la modificación como el procedimiento recomendado. Este método se basa en los anteriores y en el de Wilkinson.

**PRINCIPIO:**

El N-Nitrofenyl Fosfato es hidrolizado a P-Nitrofenol y fosfato inorgánico. La razón de hidrólisis del P-NPP medida a 405, es directamente proporcional a la actividad de la fosfatasa alcalina.

**REACTIVOS:**

Las concentraciones se refieren a los reactivos reconstituidos. Reactivo Fosfatsa Alcalina: P-Nitrofenilfosfato 10mM Buffer (PH 10.1+0.1) activador.

**PRECAUCIONES:**

1. Para diagnóstico "In Vitro" solamente.
2. Evite ingestión de todos los materiales.

**PREPARACION:**

Reconstituya con agua destilada especificado en cada vial, disuelva despacio.

**ALMACENAMIENTO:**

Almacenar el reactivo de 2-8°C.

El reactivo reconstituido es estable por 60 días cuando está a 2-8°C en bote de vidrio ámbar. 7 días a temperatura ambiente.

**DETERIORO DEL REACTIVO:****No use si:**

1. El polvo seco se humedece
2. El reactivo reconstituido tiene densidad óptica mayor que 1.0 a 405 nM.

**RECOLECCION Y ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA:**

1. Utilice suero no hemolizado (no utilice plasma ya que los agentes anticoagulantes inhiben la actividad de la fosfatasa alcalina)
2. Las muestras deben almacenarse de 2-8°C y correrse en dos días máximo.

**INTERFERENCIAS:**

Algunas drogas o sustancias afectan la actividad de la fosfatasa alcalina.

**MATERIALES REQUERIDOS:**

Reactivo de fosfatasa alcalina.

**MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS:**

1. Instrumentos de pipeteo.
2. Tubo de ensayo o gradilla.
3. Reloj.
4. Espectrofotómetro 405 nM.
5. Baño María o block térmico.

**PROCEDIMIENTO AUTOMATIZADO:**

Vea instrucciones de aplicaciones específicas del instrumento

**PROCEDIMIENTO MANUAL:**

1. Reconstituya el reactivo según instrucciones.
2. Pipetee 1.0 ml. de reactivo en los tubos apropiados y pre-incube a 37°C por 5 minutos.
3. Ponga en cero el espectrofotómetro con agua a 405 nm.
4. Transfiera 0.025ml. (25ul) de muestra al reactivo, mezcle e incube a 37°C. Repita las lecturas cada minuto
5. los próximos 2 minutos.
6. Después de un minuto lea y ante la absorbancia regrese el tubo al block. Repita las lecturas cada minuto los
7. próximos 2 minutos.
8. Calcule la diferencia promedio de absorción por minuto.
9. La Abs/min multiplicada por el factor 2187 (cálculos) nos dará los resultados en IU/L.
10. Las muestras con valores sobre 800 IU/L. se deben diluir 1:1 con solución salina, corra de nuevo y
11. multiplique por dos.

**NOTA:**

Si el espectrofotómetro cuenta con cubeta de temperatura controlada deje el tubo mientras se toman las lecturas.

**CALIBRACION:**

El procedimiento es estandarizado por la absorción milimolar del P-Nitrofenol (18-75 a 405 nM) bajo condiciones específicas. Los resultados se basan en el cambio de absorbancia por unidad de tiempo. Todos los parámetros deben ser conocidos y controlados.

**CONTROL DE CALIDAD:**

Los sueros control normal y anormal se deben correr rutinariamente para monitorear la validez de reacción.

**CALCULOS:**

La unidad internacional (IU/L) es la unidad enzima que cataliza la transformación de un micromol de sustrato por minuto bajo condiciones específicas.

$$IU / L = \frac{\Delta Abs. / min. \times 1000 \times 1.025}{18.75 \times 1 \times 0.25} = \Delta Abs. / min \times 2187$$

**DONDE:**

- Δ ABS/MIN = Cambio de absorción
- 1000 = Conversión de IU/ml a IU/L
- 1.025 = Volumen total de reacción.
- 18.75 = Absorción milimolar del P-Nitrofenol
- 1 = Trayecto de la luz en cm.

**NOTA:**

Si los parámetros se alteran, el factor deberá ser calculado utilizando la fórmula anterior.

**UNIDADES SI:**

Multiplique UI/L. por 16.67 = (NKAT/L)

**LIMITACIONES:**

Esta metodología mide la fosfatasa alcalina total irrespectivamente del tejido órgano de origen. Para un diagnóstico diferencial pueden necesitarse mas pruebas.

**VALORES SUGERIDOS:**

Adultos: 35-123 IU/L a 37°C  
 Niños: tienen valores normales mayores.

**DESEMPEÑO:**

1. Linealidad 800 IU/L.
2. Comparación: Coeficiente de correlación de 0.999 con una ecuación de regresión de Y-0.98x-2.5
3. Precisión:

Entre Prueba		
Conc.	S.D.	C.V.%
66	0.5	0.8
147	0.7	0.5

Prueba a Prueba		
Conc.	S.D.	C.V.%
69	1.7	2.5
151	1.6	1.1

**REFERENCIAS:**

1. Fujita h j Biochem, (Japan) 30:69 (1969)
2. Bassey, o,a, Lowry, O.H., Brock, M,J,J, Biol Chem, 164:321 (1964)
3. Bowers, G.N.. Jr. Mcomb, R,B,Clin. Chem, 12:70 (1966)
4. The comitee on Enzymes of the escandinavan Society for Clinical Chemistry and Clinical Phsicology, Scand, J. Clin. Lab. Invest. 32:291 (1974)
5. Wilkinson, J.H. el al, Clin, Chem, 15:487 (1969)
6. Young D.S., el al Clin Chem 21:1d (1975)
7. Demetriou, J.A., Drewes, P.A., Gin,.J.B. Clinical Chemistry: Principes and Technics, 2nd Ed, Hagerstown (MD), Harper and Row, p.927 (1974)
8. Rej.,R.,Clin, Chem, 23:1903 (1977).

REV. 2/90



**DISTRIBUOTOR:**  
**MYM Laboratory & Medical Supply, Inc.**  
 8684 Ave. de la Fuente Ste. 14  
 San Diego CA. 92154  
 Tel. (619) 710-0126 Fax. (619) 710-0297  
 www.mymSupply.com  
 email: mail@mymSupply.com