

# Fosfatasa alcalina

p-Nitrofenilfosfato. Cinético. DGKC

## Determinación cuantitativa de fosfatasa alcalina (FAL) IVD

Conservar a 2-8°C

### PRINCIPIO DEL MÉTODO

La fosfatasa alcalina (FAL) cataliza la hidrólisis del p-nitrofenilfosfato (pNPP) a pH 10,4 liberando p-nitrofenol y fosfato, según la siguiente reacción:



La velocidad de formación del p-Nitrofenol, determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de fosfatasa alcalina en la muestra ensayada<sup>1,2</sup>.

### SIGNIFICADO CLÍNICO

Las fosfatasas alcalinas son enzimas que se encuentran presentes en casi todos los tejidos del organismo, siendo particularmente alta en huesos, hígado, placenta, intestinos y riñón.

Tanto el aumento como la disminución de los niveles en plasma, tienen significado clínico.

Causas más probables de aumento del nivel de FAL:

Enfermedad ósea de Paget, obstrucciones hepáticas, hepatitis, hepatotoxicidad por medicamentos y osteomalacia.

Causas más probables de disminución del nivel de FAL:

Cretenismo y déficit de vitamina C<sup>1,5,6</sup>.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

### REACTIVOS

<b>R 1</b>	Dietanolamina (DEA) pH 10,4	1 mmol/L
Tampón	Cloruro de magnesio	0,5 mmol/L
<b>R 2</b>	p-Nitrofenilfosfato (pNPP)	10 mmol/L
Substrato		

### PRECAUCIONES

R1: H315- Contiene Dietanolamina (HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH)<sub>2</sub>). Provoca irritación cutánea. H318- Provoca lesiones oculares graves. H373- Puede provocar daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas. Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

### PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT):

Ref: 1001130

Disolver (→) un comprimido de R 2 Substrato en un vial de R 1 Tampón.

Ref: 1001131

Disolver (→) un comprimido de R 2 Substrato en 15 mL de R 1 Tampón.

Ref: 1001132

Disolver (→) el contenido de un vial de R 2 Substrato en 50 mL de R 1.

Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.

Estabilidad: 21 días a 2-8°C o 5 días a temperatura ambiente (15-25°C).

### CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar las tabletas si aparecen fragmentadas.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

**Indicadores de deterioro de los reactivos:**

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias del Blanco a 405 nm  $\geq$  1,30.

### MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 405 nm.
- Baño termostatable a 25°C, 30°C ó 37°C ( $\pm$  0,1°C)
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

### MUESTRAS

Suero o plasma heparinizado<sup>1</sup>.

Suero libre de hemólisis, separado de los hematíes lo antes posible.

Estabilidad: 3 días a 2-8°C.

### PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: ..... 405 nm

Cubeta: ..... 1 cm paso de luz

Temperatura constante: ..... 25°C / 30°C / 37°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.

3. Pipetear en una cubeta:

RT (mL)	1,2
Muestra ( $\mu$ L)	20

4. Mezclar, incubar 1 minuto.

5. Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronometro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos.

6. Calcular el promedio del incremento de absorbancia por minuto ( $\Delta A/\text{min}$ ).

### CÁLCULOS

$\Delta A/\text{min} \times 3300 = \text{U/L de FAL}$

**Unidades:** La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1  $\mu\text{mol}$  de sustrato por minuto, en condiciones estándar. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).

### Factores de conversión de temperaturas

Los resultados pueden transformarse a otras temperaturas multiplicando por:

Temperatura de medición	Factor para convertir a		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,22	1,64
30°C	0,82	1,00	1,33
37°C	0,61	0,75	1,00

### CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

### VALORES DE REFERENCIA<sup>1</sup>

	25°C	30°C	37°C
Niños (1-14 años)	< 400 U/L	< 480 U/L	< 645 U/L
Adultos	60 -170 U/L	73 - 207 U/L	98 - 279 U/L

Factores que pueden afectar los valores de referencia son: ejercicio, periodos de crecimiento en niños y embarazo.

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

### CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

**Rango de medida:** Desde el *límite de detección* 0 U/L hasta el *límite de linealidad* 1200 U/L.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/10 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 10.

### Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
	Media (U/L)	SD	Media	SD
Media (U/L)	167	424	166	430
SD	0,94	1,93	3,44	5,92
CV (%)	0,56	0,46	2,07	1,38

**Sensibilidad analítica:** 1 U/L = 0,0003  $\Delta A/\text{min}$ .

**Exactitud:** Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación ( $r^2$ ): 0,999.

Ecuación de la recta de regresión:  $y=0,999x - 0,918$ .

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

### INTERFERENCIAS

El fluoruro, oxalato, citrato y EDTA inhiben la actividad de la fosfatasa alcalina, por lo que no deben ser utilizados como anticoagulantes.

La hemólisis interfiere debido a la elevada concentración de fosfatasa alcalina en los hematíes<sup>1,2</sup>. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la fosfatasa alcalina<sup>3,4</sup>.

### NOTAS

**SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

### BIBLIOGRAFÍA

1. Wenger C. et al. Alkaline phosphatase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1094-1098.
2. Rosalki S et al. Clin Chem 1993; 39/4: 648-652.
3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
5. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
6. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

### PRESENTACIÓN

Ref: 1001130 R1: 20 x 3 mL, R2: 20 → 3 mL

Ref: 1001131  Cont. R1: 1 x 150 mL, R2: 10 → 15 mL

Ref: 1001132 R1: 10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL

# Alkaline phosphatase

p-Nitrophenylphosphate. Kinetic. DGKC

## Quantitative determination of alkaline phosphatase (ALP) IVD

Store at 2-8°C

### PRINCIPLE OF THE METHOD

Alkaline phosphatase (ALP) catalyses the hydrolysis of p-nitrophenyl phosphate at pH 10,4 liberating p-nitrophenol and phosphate, according to the following reaction:



The rate of p-Nitrophenol formation, measured photometrically, is proportional to the catalytic concentration of alkaline phosphatase present in the sample<sup>1,2</sup>.

### CLINICAL SIGNIFICANCE

Alkaline phosphatase is an enzyme present in almost all tissues of the organism, being particularly high in bone, liver, placenta, intestine and kidney.

Both increases and decreases of plasma ALP are of importance clinically. Causes of increased plasma ALP: Paget's disease of bone, obstructive liver disease, hepatitis, hepatotoxicity caused by drugs or osteomalacia. Causes of decreased plasma ALP: Cretinism and vitamin C deficiency<sup>1,5,6</sup>. Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

### REAGENTS

<b>R 1</b> Buffer	Diethanolamine (DEA) pH 10,4 Magnesium chloride	1 mmol/L 0,5 mmol/L
<b>R 2</b> Substrate	p-Nitrophenylphosphate (pNPP)	10 mmol/L

### PRECAUTIONS

R1: H315- Contains Diethanolamine (HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH)<sub>2</sub>). Causes skin irritation. H318- Causes serious eye damage. H373- May cause damage to organs through prolonged or repeated exposure. Follow the precautionary statements given in MSDS and label of the product.

### PREPARATION

Working reagent (WR):  
Ref: 1001130  
Dissolve (→) one tablet of R 2 Substrate in one vial of R 1 Buffer.  
Ref: 1001131  
Dissolve (→) one tablet of R 2 Substrate in 15 mL of R 1 Buffer.  
Ref: 1001132  
Dissolve (→) the contents of R 2 Substrate in 50 mL of R 1 Buffer.  
Cap and mix gently to dissolve contents.  
Stability: 21 days at 2-8°C or 5 days at room temperature (15-25°C).

### STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.  
Do not use the tablets if appears broken.  
Do not use reagents over the expiration date.

### Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 405 nm ≥ 1,30.

### ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 405 nm.
- Thermostatic bath at 25°C, 30°C or 37°C (± 0,1°C)
- Matched cuvettes 1,0 cm light path.
- General laboratory equipment.

### SAMPLES

Serum or heparinized plasma<sup>1</sup>. Use unhemolyzed serum, separated from the clot as soon as possible. Stability: 3 days at 2-8°C.

### PROCEDURE

- Assay conditions:  
Wavelength: ..... 405 nm  
Cuvette: ..... 1 cm light path  
Constant temperature: ..... 25°C / 30°C / 37°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water or air.
- Pipette into a cuvette:

WR (mL)	1,2
Sample (µL)	20

- Mix, incubate for 1 minute.
- Read initial absorbance (A) of the sample, start the stopwatch and read absorbances at 1 minute intervals thereafter for 3 minutes.
- Calculate the difference between absorbances and the average absorbance differences per minute (ΔA/min).

### CALCULATIONS

ΔA/min x 3300 = U/L de ALP

**Units:** One international unit (IU) is the amount of enzyme that transforms 1 µmol of substrate per minute, in standard conditions. The concentration is expressed in units per litre of sample (U/L).

### Temperature conversion factors

To correct results to other temperatures multiply by:

Assay temperature	Conversion factor to		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,22	1,64
30°C	0,82	1,00	1,33
37°C	0,61	0,75	1,00

### QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINTROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and technique for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

### REFERENCE VALUES<sup>1</sup>

	25°C	30°C	37°C
Children (1-14 years)	< 400 U/L	< 480 U/L	< 645 U/L
Adults	60 - 170 U/L	73 - 207 U/L	98 - 279 U/L

Factors affecting ALP activities in a normal population include exercise, periods of repaid growth in children and pregnancy.

These values are for orientation purpose. Each laboratory should establish its own reference range.

### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

**Measuring range:** From *detection limit* of 0 U/L to *linearity limit* of 1200 U/L.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/10 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 10.

### Precision:

Mean (U/L)	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
	167	424	166	430
SD	0,94	1,93	3,44	5,92
CV (%)	0,56	0,46	2,07	1,38

**Sensitivity:** 1 U/L = 0,0003 ΔA/min.

**Accuracy:** Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).

The results obtained using 50 samples were the following:

Correlation coefficient (r)<sup>2</sup>: 0,999.

Regression equation: y=0,999x - 0,918.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

### INTERFERENCES

Fluoride, oxalate, citrate and EDTA inhibit alkaline phosphate activity and should therefore not be used as anticoagulants. Haemolyses interferes due to the high concentration of alkaline phosphatase in red cells<sup>1,2</sup>.

A list of drugs and other interfering substances with acid phosphatase determination has been reported<sup>3,4</sup>.

### NOTES

**SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.**

### BIBLIOGRAPHY

- Wenger C. et al. Alkaline phosphatase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1094-1098.
- Rosalki S et al. Clin Chem 1993; 39/4: 648-652.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

### PACKAGING

Ref: 1001130 R1: 20 x 3 mL, R2: 20 → 3 mL

Ref: 1001131  R1: 1 x 150 mL, R2: 10 → 15 mL

Ref: 1001132 R1: 10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL

# Phosphatase alcaline

p-Nitrophénylphosphate cinétique. DGKC

## Détermination quantitative de phosphatase alcaline (FAL) IVD

Conserver à 2-8°C

### PRINCIPE DE LA METHODE

La phosphatase alcaline (FAL) catalyse l'hydrolyse du p-nitrophénylphosphate (pNPP) à pH 10,4 libérant du p-nitrophénole et du phosphate en fonction de la réaction suivante:



La vitesse de formation du p-Nitrophénole, déterminée par photométrie, est proportionnelle à la concentration catalytique de phosphatase alcaline dans l'échantillon testé<sup>1, 2</sup>.

### SIGNIFICATION CLINIQUE

Les phosphatases alcalines sont des enzymes qui se trouvent dans presque tous les tissus de l'organisme, mais particulièrement concentrée dans les os, le foie, le placenta, les intestins et les reins.

L'augmentation, aussi bien que la réduction des niveaux dans le plasma ont une signification clinique.

Les causes les plus probables d'augmentation du niveau de FAL:

Maladie osseuse de Paget, obstructions hépatiques, hépatite, hepatotoxicité provoquée par des médicaments ou par de l'ostéomalacie.

Les causes les plus probables de réduction du niveau de FAL:

Crétinisme et manque de vitamine C<sup>1, 5, 6</sup>.

Le diagnostic clinique doit être réalisé en prenant compte des données cliniques et de laboratoire.

### REACTIFS

<b>R 1</b> Tampon	Diéthanolamine (DEA) pH 10,4 Chlorure de magnésium	1 mmol/L 0,5 mmol/L
<b>R 2</b> Substrats	p-Nitrophénylphosphate (pNPP)	10 mmol/L

### PRÉCAUTIONS

R1 : H315- Contient de la Diéthanolamine (HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH)<sub>2</sub>). Provoque une irritation de la peau. H318- Provoque des lésions oculaires graves. H373- Peut causer des dommages aux organes en cas d'exposition prolongée ou répétée.  
Suivez les conseils de prudence donnés en SDS et étiquette.

### PREPARATION

Réactif de travail (RT):

Réf: 1001130

Dissoudre (→) une tablette de substrats de R 2 dans une capsule de tampon R 1.

Réf: 1001131

Dissoudre (→) une tablette de substrats de R 2 dans 15 mL de tampon R 1.

Réf: 1001132

Dissoudre (→) le contenu d'une capsule de substrats de R 2 dans 50 mL de R 1.

Refermer et mélanger doucement jusqu'à dissoudre le contenu.

Stabilité: 21 jours à 2-8°C ou 5 jours à température ambiante (15-25°C).

### CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, et si les flacons sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination.

Ne pas utiliser les tablettes si elles sont fragmentées.

Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

### Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorption du blanc à 405 nm  $\geq 1,30$ .

### MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Spectrophotomètre ou analyseur pour lectures à 405 nm.
- Bain thermostable à 25°C, 30°C ou 37°C ( $\pm 0,1^\circ\text{C}$ )
- Equipement classique de laboratoire.

### ECHANTILLONS

Sérum ou plasma heparinisé<sup>1</sup>.

Sérum ne contenant pas d'hémolyse, séparé des hématies le plus tôt possible.

Stabilité: 3 jours à 2-8°C.

### PROCEDURE

1. Conditions de test:

Longueur d'ondes: ..... 405 nm

Cuvette: ..... 1 cm d'éclairage

Température: ..... 25°C/30°C/37°C

2. Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée ou air.

3. Pipetter dans une cuvette:

RT (mL)	1,2
Echantillon (µL)	20

- Mélanger, laisser incuber 1 minute.
- Lire l'absorption (A) initiale de l'échantillon, mettre en route le chronomètre et lire l'absorption à chaque minute pendant 3 minutes.
- Calculer la moyenne de l'augmentation d'absorption par minute ( $\Delta A/\text{min}$ ).

### CALCULS

$\Delta A/\text{min} \times 3300 = \text{U/L de FAL}$

**Unités:** L'unité internationale (UI) correspond à la quantité d'enzymes qui converti 1 µmol de substrats par minute, sous des conditions standard. La concentration est exprimée en unités par litre (U/L).

### Facteurs de conversion de températures

Les résultats peuvent se transformer à d'autres températures, en multipliant par:

Température de mesure	Facteur de conversion à		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,22	1,64
30°C	0,82	1,00	1,33
37°C	0,61	0,75	1,00

### CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINTROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibre.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

### VALEURS DE REFERENCE<sup>1</sup>

	25°C	30°C	37°C
Enfants (1-14 ans)	< 400 U/L	< 480 U/L	< 645 U/L
Adultes	60 - 170 U/L	73 - 207 U/L	98 - 279 U/L

Les facteurs qui peuvent affecter les valeurs de référence sont: l'exercice, les périodes de croissance chez l'enfant et la femme enceinte.

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

### CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

**Gamme de mesures:** Depuis la limite de détection 0 U/L jusqu'à la limite de linéarité 1200 U/L.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité diluer 1/10 avec du ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 10.

### Précision:

	Intra-série (n= 20)		Inter-série (n= 20)	
	Moyenne (U/L)	SD	166	430
CV (%)	0,56	1,93	3,44	5,92
		0,46	2,07	1,38

**Sensibilité analytique:** 1 U/L = 0,0003  $\Delta A/\text{min}$

**Exactitude:** Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation ( $r^2$ ): 0,999.

Equation de la Coubre de régression:  $y=0,999x - 0,918$ .

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

### INTERFERENCES

Le fluorure oxalate, le citrate et l'EDTA inhibent l'activité de la phosphatase alcaline; ils doivent donc être utilisés comme des anticoagulants.

L'hémolyse interfère dans le résultat, étant donné sa forte concentration en phosphatase alcaline dans les hématies<sup>1, 2</sup>. Différentes drogues ont été décrites et ainsi que d'autres substances qui interfèrent dans la détermination de la phosphatase alcaline<sup>3, 4</sup>.

### REMARQUES

**SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.**

### BIBLIOGRAPHIE

- Wenger C. et al. Alkaline phosphatase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1094-1098.
- Rosalki S et al. Clin Chem 1993; 39/4: 648-652.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

### PRESENTATION

Ref: 1001130	Cont.	R1: 20 x 3 mL, R2: 20 → 3 mL
Ref: 1001131		R1: 1 x 150 mL, R2: 10 → 15 mL
Ref: 1001132		R1: 10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL

# Fosfatase alcalina

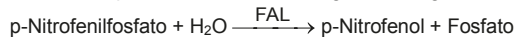
p-Nitrofenilfosfato. Cinético. DGKC

## Determinação quantitativa de fosfatase alcalina (FAL) IVD

Conservar a 2-8°C

### PRINCÍPIO DO MÉTODO

A fosfatase alcalina (FAL) catalisa a hidrólise do p-nitrofenilfosfato (pNPP) a pH 10,4 libertando p-nitrofenol e fosfato, segundo a seguinte reacção:



A velocidade de formação do p-Nitrofenol, determinado fotométricamente, é proporcional à concentração catalítica de fosfatase alcalina na amostra ensaiada<sup>1,2</sup>.

### SIGNIFICADO CLÍNICO

As fosfatases alcalinas são enzimas que se encontram presentes em quase todos os tecidos do organismo, sendo particularmente elevada nos ossos, fígado, placenta, intestinos e rins.

Tanto o aumento como a diminuição dos seus níveis no plasma, apresentam significado clínico.

Causas mais prováveis de aumento dos valores de FAL:

Doença óssea de Paget, obstruções hepáticas, hepatite, hepatotoxicidade por medicamentos e osteomalácia.

Causas mais prováveis de diminuição dos valores de FAL:

Cretinismo e défice de vitamina C<sup>1,5,6</sup>.

O diagnóstico clínico deve ser feito tendo em conta todos os dados clínicos e laboratoriais.

### REAGENTES

<b>R 1</b>	Dietanolamina (DEA) pH 10,4	1 mmol/L
Tampão	Cloreto de magnésio	0,5 mmol/L
<b>R 2</b>	p-Nitrofenilfosfato (pNPP)	10 mmol/L
Substrato		

### PRECAUÇÕES

R1: H315- Contém Dietanolamina (HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH)<sub>2</sub>). Provoca irritação da pele. H318- Provoca lesões oculares graves. H373- Pode causar danos em órgãos através de exposição prolongada ou repetida. Seguir os conselhos de prudência dados em SDS e etiqueta.

### PREPARAÇÃO

Reagente de trabalho (RT):

Ref: 1001130

Dissolver (→) um comprimido de R 2 Substrato num frasco de R 1 Tampão.

Ref: 1001131

Dissolver (→) um comprimido de R 2 Substrato em 15 mL de R 1 Tampão.

Ref: 1001132

Dissolver (→) o conteúdo de um frasco de R2 Substrato em 50 mL de R 1.

Tapar e misturar suavemente até dissolução do conteúdo.

Estabilidade: 21 dias a 2-8°C ou 5 dias à temperatura ambiente (15-25°C).

### CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis, até ao final do prazo de validade indicado no rótulo, quando mantidos nos frascos bem fechados, a 2-8°C, protegidos da luz e evitando a sua contaminação.

Não usar os comprimidos se eles estiverem fragmentados.

Não usar reagentes após a data indicada.

### Indicadores de deterioração dos reagentes:

- Presença de partículas e turvação.
- Absorvâncias do branco a 405 nm  $\geq$  1,30.

### MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro ou analisador para leituras a 405 nm.
- Banho termostável a 25°C, 30°C ó 37°C ( $\pm$  0,1°C)
- Cuvetes de 1,0 cm de passo de luz.
- Equipamento habitual de laboratório.

### AMOSTRAS

Soro ou plasma heparinizado<sup>1</sup>.

Soro livre de hemólise, separado das hemácias o mais rapidamente possível.

Estabilidade: 3 dias a 2-8°C.

### PROCEDIMENTO

1. Condições do ensaio:

Comprimento de onda: ..... 405 nm

Cuvete: ..... 1 cm passo de luz

Temperatura constante: ..... 25°C / 30°C / 37°C

2. Ajustar o espectrofotómetro a zero com água destilada ou ar.

3. Pipetar para uma cuvette:

RT (mL)	1,2
Amostra ( $\mu$ L)	20

4. Misturar, incubar 1 minuto.

5. Ler a absorvância (A) inicial da amostra, por o cronómetro em funcionamento e ler a absorvância a cada minuto durante 3 minutos.

6. Calcular a média do aumento de absorvância por minuto ( $\Delta A/\text{min}$ ).

### CÁLCULOS

$\Delta A/\text{min} \times 3300 = \text{U/L de FAL}$

**Unidades:** A unidade internacional (UI) é a quantidade de enzima que converte 1  $\mu$ mol de substrato por minuto, em condições standardizadas. A concentração é expressa em unidades por litro (U/L).

### Factores de conversão de temperatura

Os resultados podem ser convertidos, a outras temperaturas, multiplicando por:

Temperatura de medição	Factor para converter a		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,22	1,64
30°C	0,82	1,00	1,33
37°C	0,61	0,75	1,00

### CONTROLO DE QUALIDADE

É conveniente analisar juntamente com as amostras, os soros controlo valorizados:

SPINTROL H Normal e Patológico (Ref. 1002120 e 1002210).

Se os valores determinados estiverem fora do intervalo de tolerância, verificar o equipamento, os reagentes e o calibrador.

Cada laboratório deve dispor do seu próprio Controlo de Qualidade e estabelecer correções caso os controlos não cumpram com as tolerâncias.

### VALORES DE REFERENCIA<sup>1</sup>

	25°C	30°C	37°C
Niños (1-14 años)	< 400 U/L	< 480 U/L	< 645 U/L
Adultos	60 - 170 U/L	73 - 207 U/L	98 - 279 U/L

Factores que podem afectar os valores de referência são: exercício, períodos de crescimento em crianças e na gravidez.

Estes valores são orientativos. É recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

### CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO

**Intervalo de medida:** Desde o *limite de detecção* 0 U/L até ao *limite de linearidade* de 1200 U/L.

Se a concentração da amostra for superior ao limite de linearidade, diluir 1/10 com NaCl 9 g/L e multiplicar o resultado final por 10.

### Precisão:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
	Média (U/L)	SD	CV (%)	
Média (U/L)	167	424	166	430
SD	0,94	1,93	3,44	5,92
CV (%)	0,56	0,46	2,07	1,38

**Sensibilidade analítica:** 1 U/L = 0,0003  $\Delta A/\text{min}$ .

**Exactidão:** Os reagentes SPINREACT (y) não amostram diferenças sistemáticas significativas quando se comparam com outros reagentes comerciais (x).

Os resultados obtidos com 50 amostras foram os seguintes:

Coefficiente de correlação ( $r^2$ ): 0,999.

Equação da recta de regressão:  $y=0,999x - 0,918$ .

As características do método podem variar segundo o analisador utilizado.

### INTERFERÊNCIAS

O fluoreto, oxalato, citrato e EDTA inibem a actividade da fosfatase alcalina, pelo que não devem ser utilizados como anticoagulantes.

A hemólise interfere devido à elevada concentração de fosfatase alcalina nas hemácias<sup>1,2</sup>. Estão descritas várias drogas e outras substâncias que interferem na determinação da fosfatase alcalina<sup>3,4</sup>.

### NOTAS

**SPINREACT dispõe de instruções detalhadas para a aplicação deste reagente em diferentes equipamentos.**

### BIBLIOGRAFIA

1. Wenger C. et al. Alkaline phosphatase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1094-1098.
2. Rosalki S et al. Clin Chem 1993; 39/4: 648-652.
3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
5. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
6. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

### APRESENTAÇÃO

Ref: 1001130 R1: 20 x 3 mL, R2: 20 → 3 mL

Ref: 1001131  Cont. R1: 1 x 150 mL, R2: 10 → 15 mL

Ref: 1001132 R1: 10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL