

ALP – LQ (Fosfatasa alcalina)

p-Nitrofenilfosfato. Cinético. Líquido. DGKC

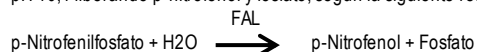
DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE FOSFATASA ALCALINA (FAL)

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 ^{1,2}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

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

Tiene importancia clínica tanto su aumento como su disminución de los niveles en plasma.

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:

Cretinismo y déficit de vitamina C^{1,5,6}.

REACTIVOS

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

PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT):

Mezclar: 4 vol. (R1) Tampón + 1 vol. de (R2) Substrato.

Estabilidad: 1 mes a 2-8°C o 10 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 del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada..

Indicadores de deterioro:

- Presencia de partículas y turbidez.

- Absorbancia del Blanco a 405 1,50

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 405 nm.

- Baño termostatzable a 25°C, 30°C ó 37° C (± 0,1°C)

- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.

- Equipamiento habitual de laboratorio

MUESTRAS

Suero o plasma heparinizado¹. Usar suero libre de hemólisis, separado de los hematies 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.

3. Pipetear en una cubeta:

RT (ml)	1.2
Muestra (µl)	20

4. Mezclar, incubar 1 minuto.

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

6. Calcular el promedio de la diferencia de absorbancia por minuto (ΔA/min).

CÁLCULOS

ΔA/min x 3300 = U/L de FAL

Unidades: La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1 µmol 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:

Multi RS Control Normal (nivel 1) y Patológico (nivel 2).

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 REFERENCIA¹.

	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 0,6845 U/L hasta el límite de linealidad de 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)	174	443	175	434
SD	0,72	1,56	6,88	11,93
CV (%)	0,41	0,35	3,93	2,75

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,0003 ΔA/min.

Exactitud: Los reactivos **REACTIVA SEARCH** (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 regresión (r)²: 0,99938.

Ecuación de la recta de regresión: y= 1,025x – 1,105.

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 hematies^{1,2}. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la fosfatasa alcalina^{3,4}.

BIBLIOGRAFÍA

- 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.

PRESENTACIÓN:

CONT. R1 1x240 ml / R2 1x60 CODIGO: RS29064