

Fosfatasa alcalina

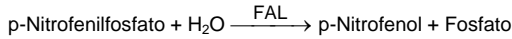
p-Nitrofenilfosfato. Cinético. Líquido. DGKC

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:

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

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

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

Estabilidad: 1 mes a 2-8°C o 10 días a temperatura ambiente.

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 de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias del Blanco a 405 \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 heparinizado¹. Usar suero libre de hemólisis, separado de los hematíes lo antes posible.

Estabilidad: 3 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
 - Longitud de onda: 405 nm
 - Cubeta: 1 cm paso de luz
 - Temperatura constante 25°C / 30°C / 37°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.
- Pipetear en una cubeta:

RT (mL)	1,2
Muestra (μ L)	20

- Mezclar, incubar 1 minuto.
- Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronómetro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos.
- 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 μ 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	2,64
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:

SPINROL 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 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 4 U/L hasta el límite de linealidad de 825 U/L.

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

Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (U/L)	170	408	165	446
SD	3,94	7,45	2,26	5,17
CV (%)	2,30	1,82	1,37	1,16

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 regresión (r): 0.99.

Ecuación de la recta de regresión: $y = 0.9995x - 1.1116$.

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

NOTAS

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

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

Ref: 41240	Cont.	R1	60 mL
		R2	15 mL
Ref: 41242	Cont.	R1	240 mL
		R2	60 mL