



- ALP LQ -

FOSFATASA ALCALINA

p-Nitrofenilfosfato. Cinético. Líquido. DGCK

Presentación:

Cod. DGEZ002LQ-SP CONT: R1 1 x 40 + R2 1 x 10 mL .
 DGEZ002LQ CONT: R1 1 x 100 + R2 1 x 25 mL .
 DGEZ003LQ CONT: R1 2 x 100 + R2 2 x 25 mL

Conservar entre: +2+8°C.

Procedimiento

Determinación cuantitativa de fosfatasa alcalina (ALP).

Solo para uso in vitro en laboratorio clínico (IVD).

PRINCIPIO

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}

COMPOSICIÓN DE LOS REACTIVOS

R 1	Dietanolamina (DEA) pH 10.4	1 mmol/L
Tampón	Cloruro magnesio	0,5 mmol/L
R 2	p-Nitrofenilfosfato (pNPP)	10 mmol/L
Sustrato		

PREPARACIÓN DEL REACTIVO Y ESTABILIDAD

Reactivo de trabajo (RT)

Mezclar: 1 vol. de R 2 Substrato + 4 vol. R 1 Tampón.

Estabilidad: 30 días a 2-8°C o 10 días a temperatura ambiente (15-25°C).

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias del Blanco a 405 \geq 1.30

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 el reactivo pasada su fecha de caducidad.

MUESTRAS

Suero o plasma heparinizado¹.

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

Estabilidad: 3 días a 2-8°C.

MATERIAL NECESARIO NO INCLUIDO

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 405 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Baño termostable a 25°C, 30°C o 37°C (\pm 0.1°C).

Equipo general de laboratorio.

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 cronometro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos. Calcular el promedio del incremento de absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{min}$).

CÁLCULOS (Nota 2)

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

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 ensayo	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 recomendable utilizar sueros de control, H Normal y H Patológico (DGQC003, DGQC004). Si los valores obtenidos están fuera de rango, se deben revisar los reactivos, calibrador e instrumento utilizados.

Los sueros de control son recomendables para los controles de calidad internos. Cada laboratorio debería establecer su propio esquema de calidad y acciones correctivas si los controles no cumplen con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA¹

	25°C	30°C	37°C
Niños (1-14 años) hasta	<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, períodos de crecimiento en niños y embarazo.

(Estos valores son únicamente orientativos).

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

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.

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}.

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

CARACTERÍSTICAS DEL REACTIVO

- **Rango de medida:** Desde el límite de detección 0.6845 U/L hasta el límite de linealidad 1200 U/L.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

- **Precisión:**

	Intra-ensayo n= 20		Inter-ensayo n= 20	
Media (U/L)	174	443	175	434
SD	0.72	1.56	3.93	11.93
CV (%)	0.41	0.35	3.93	2.75

- **Sensibilidad:** 1 U/L = 0.0003 $\Delta A/\text{min}$

- **Exactitud:** Los resultados obtenidos con los reactivos Diagnostilab no mostraron diferencias sistemáticas comparados con otros reactivos comerciales.

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 dependiendo del instrumento utilizado.

SUSTANCIAS QUE INTERFIEREN

- 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

- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- Formulación para obtener la constante:

$\Delta A/\text{min} \times 3300^* =$ U/L ALP	$\frac{* \text{ Tv } \times 1000}{\epsilon \times \text{ LP } \times \text{ Sv}}$	Tv= Volumen Total en mL ϵ p-Nitrofenol = 18.45 a 405 nm LP= paso de luz Sv= Volumen de muestra en mL
--	---	--

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.



CHEMELEX, S.A.
 Pol. Ind. Can Castells. C / Industria 113, Nave J
 08420 Canovelles -BARCELONA-
 Tel- 34 93 849 17 35 Fax- 34 93 846 78 75

DGPLBEDTT25-E
 Rev.6 - 13/05/2019