

# 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		

### 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 ( $\pm 0,1^\circ\text{C}$ )
- 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 ( $\mu\text{L}$ )	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 (U/L)	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