SPINREACT

CE

ALP (IFCC)

Phosphatase alcaline

p-Nitrophénylphosphate. Cinétique. AMP buffer (IFCC)

Détermination quantitative de phosphatase alcaline (PAL) IVD

A conserver entre 2-8ºC

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Test photométrique, conformément à l'*International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicines (IFCC)*.
La phosphatase alcaline (PAL) catalyse le transfert du groupe phosphate depuis le p-nitrophénylphosphate (pNPP) vers le 2-amino-méthyle-1-propanol en libérant du p-nitrophénol et du phosphate, selon la réaction suivante :

$$\text{p-Nitrophénylphosphate} + \text{AMP} \xrightarrow{PAL} \text{p-Nitrophénol} + \text{Phosphate}$$

La vitesse de formation du p-Nitrophénol, déterminé de manière photométrique est proportionnelle à la concentration catalytique de phosphatase alcaline dans l'échantillon testé[1,2].

SIGNIFICATION CLINIQUE

Les phosphatases alcalines sont des enzymes qui sont présentes dans presque tous les tissus de l'organisme, en étant particulièrement élevées dans les os, le foie, le placenta, les intestins et les reins.
Aussi bien l'augmentation que la diminution des niveaux dans le plasma, ont une signification clinique.
Les causes probables d'augmentation du niveau de PAL :
Maladie osseuse de Paget, obstructions hépatiques, hépatite, hépatotoxicité par médicaments et ostéomalacie.
Les causes les plus probables de diminution du niveau de PAL :
Crétinisme et déficit en vitamine C[1,5,6].
Le diagnostic clinique doit être réalisé en tenant compte de toutes les données cliniques et de laboratoire.

REACTIFS

R 1 Tampon	2-Amino-2-méthyle-1-propanol Zinc sulfate Acétate de magnésium N-acide hydroxyéthyl éthylène diamine tétra-acétique (EDTA)	0,35 mol/L 1 mmol/L 2 mmol/L 2 mmol/L
R 2 Substrat	p-Nitrophénylphosphate (*p*NPP)	10 mmol/L

PRÉPARATION

Réactif de travail (RT) :
Mélanger : 1 vol. de (R2) substrat + 4 vol. (R1) Tampon.

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

CONSERVATION ET STABILITÉ

Toutes les composantes du kit sont stables jusqu'à l'expiration de la date mentionnée sur l'étiquette en cas de conservation hermétique sous 2-8ºC et de protection contre la lumière et les contaminations évitées lors de leur utilisation.
Ne pas congeler.
Ne pas utiliser les tablettes si elles apparaissent fragmentées.
Ne pas utiliser de réactifs en dehors de la date indiquée.
Indicateurs de détérioration des réactifs:
- Présence de particules et turbidité.
- Absorbance (A) du témoin à 405 nm > 1,50.

ÉQUIPEMENTS SUPPLÉMENTAIRES

- Spectrophotomètre ou colorimètre mesurant 405 nm.
- Bain thermostatable à 25ºC, 30ºC ou 37ºC (± 0,1ºC)
- Cuves appariées de 1.0 cm d'éclairage.
- Équipement d'usage général pour laboratoire.

ÉCHANTILLONS

Sérum ou plasma héparinisé[1].
Sérum sans hémolyse, séparé des hématies dès que possible.
Stabilité : 3 jours à 2-8ºC.

PROCÉDURE

1. Conditions d'essai:
   Longueur d'onde:. . . . . 405 nm
   Cuvette: . . . . . 1 cm. d'éclairage.
   Température 25ºC/ 30ºC/ 37ºC
2. Régler l'instrument à zéro dans l'eau distillée ou l'air.
3. Pipette dans une cuvette:

RT (mL)	1,0
Échantillon (µL)	20

4. Mélanger et incuber 1 minute.
5. Lire l'absorbance (A) initiale de l'échantillon, mettre le chronomètre en marche et lire l'absorbance chaque minute pendant 3 minutes.
6. Calculer la moyenne de la différence d'absorbance par minute (ΔA/min).

CALCULS

ΔA/min x 2764= U/L de FAL

Unités : L'unité internationale (UI) est la quantité d'enzyme qui convertit 1 µmol de substrat par minute, dans des conditions standards. 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 pour convertir à		
	25ºC	30ºC	37ºC
25ºC	1,00	1,22	1,64
30ºC	0,82	1,00	1,33
37ºC	0,61	0,75	1,00

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Il convient d'analyser des sérums de contrôle estimés en même temps que les échantillons : SPINTROL H normal et pathologique (réf. 1002120 et 1002210).
Si les valeurs trouvées sont en dehors de la gamme de tolérance, il faut réviser l'instrument, les réactifs et la technique.
Chaque laboratoire doit établir son propre système de contrôle de qualité et des actions correctives au cas où les contrôles n'atteignent pas les tolérances acceptables.

VALEURS DE RÉFÉRENCE [1]

	25ºC	30ºC	37ºC
Adultes	17 - 77 U/L	21 - 94 U/L	26 - 117 U/L

Les facteurs qui peuvent affecter les valeurs de référence sont : exercice, périodes de croissance chez les enfants et pendant la grossesse.
Ces valeurs sont orientatives. Il est conseillé que chaque laboratoire établisse ses propres valeurs de référence.

CARACTÉRISTIQUES DE LA MÉTHODE

Gamme de mesure: de la limite de la détection de 1,307 U/L à la limite de linéarité de 1400 U/L.
Précision:

	Intra-essai(n= 20)		Inter-essai (n= 20)	
Moyenne (U/L)	73	194	78	209
SD	1,67	3,03	2,13	4,90
CV (%)	2,27	1,58	2,72	2,34

Sensibilité analytique: 1 U/L = 0,0004 ΔA/min.
Exactitude: les résultats obtenus en utilisant les réactifs SPINREACT n'ont pas présenté de différences systématiques en comparaison avec d'autres réactifs commerciaux.
Les résultats obtenus sur 50 échantillons ont été les suivants :
Coefficient de régression (r) : 0,98929.
Équation de la droite de régression : y=2,214x + 2,131.
Les résultats des caractéristiques de la méthode dépendent de l'analyseur utilisé.

INTERFÉRENCES

Le fluorure, oxalate, citrate et EDTA inhibent l'activité de la phosphatase alcaline, ils ne doivent donc pas être utilisés comme anticoagulants.
L'hémolyse interfère en raison de la forte concentration de phosphatase alcaline dans les hématies[1,2].

NOTES

SPINREACT dispose d'instructions détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

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 drugs 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.
7. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. J.Clin.Chem.Clin.Biochem. 1983; 21: 731-748.

PRÉSENTATION

Réf : 41245	Cont.	R1 : R2 :	1 x 60 mL 1 x 15 mL
Réf : 41246		R1 : R2 :	1 x 240 mL 1 x 60 mL

SPINREACT,S.A./S.A.U Ctra.Santa Coloma, 7 E-17176 SANT ESTEVE DE BAS (GI) SPAIN
Tel. +34 972 69 08 00 Fax +34 972 69 00 99. e-mail: spinreact@spinreact.com