

### INDICACIONES DE USO

Reactivo líquido para la determinación de la enzima Fosfatasa Alcalina en suero o plasma optimizado según DGKC. Agente de diagnóstico in vitro, para uso exclusivo de laboratorio clínico o de gabinete.

### SIGNIFICANCIA CLÍNICA

La enzima fosfatasa alcalina se encuentra concentrada en el hígado, hueso, placenta, intestino, y algunos tumores. En los niños y durante el embarazo se encuentra en concentraciones más altas debido a los procesos de crecimiento óseo y por acción placentaria, respectivamente. Esta enzima se encuentra elevada en enfermedades tales como la hepatitis y enfermedades óseas, entre otras.

### DESCRIPCION

La fosfatasa alcalina cataliza la hidrólisis del p-Nitrofenilfosfato a p-Nitrofenol y fosfato, produciéndose un aumento de absorbancia a 405 nm proporcional a la concentración de enzima en la muestra.

p-Nitrofenilfosfato → p-Nitrofenol + fosfato

### CONSERVACION

Conservar a una temperatura de entre 2°C y 8°C y protegidos de la luz, son estables hasta la fecha de caducidad indicada en las etiquetas.

### PRESENTACION

- 1.- Reactivo 1: 3x50 ml. en frasco PEAD incoloro, reactivo 2: 1x31 ml. en frasco PEAD ámbar.
- 2.- Reactivo 1: 1x50 ml. en frasco PEAD incoloro, reactivo 2: 1x10 ml. en frasco PEAD ámbar.

### Composición de los reactivos:

Reactivo 1	Medida
Buffer DEA pH 9.8	1.2 mM
Mg <sup>2+</sup>	1.2 mM
Estabilizantes no reactivos	c.s.

Reactivo 2	Medida
p-Nitrofenilfosfato	16 mM
Estabilizantes no reactivos	c.s.

Preparación del Reactivo de Trabajo: Mezclar 10 ml de Reactivo 1 con 2 ml de Reactivo 2 o preparar el volumen requerido manteniendo la proporción. Estabilidad del reactivo de trabajo: 10 días entre 2° y 8°C, Descartar el reactivo si su absorbancia es mayor de 0.8 D. O a 405 nm contra blanco de agua.

### MUESTRA

De preferencia utilizar suero libre de hemólisis o plasma heparinizado. No utilizar plasma obtenido con oxalato, fluoruro o citrato ya que interfieren con el ensayo. La fosfatasa alcalina es estable a lo menos 4 días entre 2° y 8°C y sobre un mes a -20°C.

### MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

Espectrofotómetro manual o automático o fotocolorímetro de filtros con cubeta termoestable, capaz de medir absorbancia a 405 nm, baño termoregulado, cronómetro, pipetas, calibrador y sueros controles.

### TÉCNICA

Llevar el reactivo a la temperatura que se realizará el ensayo (37°C). Las pipetas a utilizar deben estar limpias y libres de residuos para no contaminar el reactivo.

Reactivo de trabajo (mL)	1.0
Volumen de muestra (mL)	0.02
Mezclar y transferir a la cubeta del espectrofotómetro. Incubar 60 segundos a la temperatura de reacción. Leer la absorbancia inicial (A1) a 405 nm. Repetir la lectura a los 60 segundos, exactos.	

Adaptaciones para la aplicación de este reactivo en autoanalizadores están disponibles a solicitud. Es responsabilidad del laboratorio validar esta aplicación.

### CALIBRACION

1. En la calibración se recomienda utilizar calibrador sérico VALTROL-C (código8002103), proceder de igual forma que con las muestras.
2. Se recomienda recalibrar en cualquier momento que se evidencie alguno de estos acontecimientos:
  - El lote de reactivo cambia.
  - Se realiza un mantenimiento preventivo del equipo.
  - Los valores de control han cambiado o se encuentran fuera de escala.

### CÁLCULOS

$$Factor = \frac{Concentración\ Calibrador}{\Delta A/min.\ Calibrador}$$

$$Actividad\ PAL\ (UI/L) = Factor \times Abs.Muestra$$

O bien se puede utilizar el siguiente factor:

$$Actividad\ PAL\ (UI/L) = \Delta A/min. \times 2751$$

$$Factor = \frac{Vt \times 1000}{\Sigma PNP \times P \times Vm} = 2751$$

Vt = Volumen total de reacción.

$\Sigma_{PNP}$  = Coeficiente de extinción del p-NPP a 405 nm.

P = Espesor del paso de luz en la cubeta.

Vm = Volumen de muestra utilizado.

### CONTROL DE CALIDAD

4. Es conveniente analizar junto con las muestras sueros controles valorados para Fosfatasa Alcalina por este método. Se recomienda la utilización de los sueros controles VALTROL-N (código 8002101) y VALTROL-P (código 8002104).
5. Si los valores obtenidos para los controles se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, el reactivo y el calibrador.
6. Cada laboratorio debe disponer de su propio Control de Calidad y establecer las correcciones necesarias en caso de que no se cumpla con las tolerancias permitidas para los controles.

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Los volúmenes indicados pueden ser alterados proporcionalmente sin alterar los resultados.
2. El factor podría variar en autoanalizadores por diferencia en el espesor de paso de luz. En este caso utilizar un calibrador sérico VALTROL-C (código 8002103) para obtener el factor.
3. No utilizar plasma obtenido con oxalato, fluoruro o citrato ya que interfieren con el ensayo.
4. Consultar en nuestra página WEB la ficha de seguridad de este reactivo y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación y eliminación de residuos.
5. En autoanalizadores debe utilizarse contenedores de reactivos nuevos.

## ESPECIFICACIONES DE DESEMPEÑO

**-Linealidad:** 825 U/L.

Para valores superiores a 825 U/L, diluir la muestra con suero fisiológico y el resultado obtenido se multiplica por el factor de dilución.

**-Límite de detección:** 4 U/L.

**-Interferencias:** Hemoglobina sobre 1.0 gr/dl, bilirrubina sobre 20 mg/dl y la lipemia (triglicéridos sobre 1000 mg/dl) podrían interferir en la técnica. Otros medicamentos y sustancias podrían interferir (4).

**-Exactitud:** Los reactivos Mexlab VALTEK no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales. Los detalles del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.

**-Repetividad Intra serie:** n = 20.

Nivel	Media (mg/dl)	C.V %
Normal	151	1.15%
Patológico	513	1.19%

**-Reproducibilidad Inter serie:** n = 20.

Nivel	Media (mg/dl)	C.V %
Normal	70.8	0.98%
Patológico	186.7	1.07%

Estos datos han sido obtenidos utilizando un autoanalizador MINDRAY de la serie BS. Los resultados pueden variar al cambiar de instrumento o al realizar el procedimiento manualmente.

-Certificado de Conformidad y Trazabilidad disponible a solicitud.

## RANGOS DE REFERENCIA

Cada laboratorio debe establecer sus propios rangos de referencia en función de la población de pacientes. Los rangos de referencia que se enumeran a continuación están tomados de la bibliografía existente.

Mujeres	64 – 306 U/L
Hombres	80 – 306 U/L
Niños de 15 años	Hasta 644 U/L
Niños de 17 años	Hasta 483 U/L

## REFERENCIAS

1. Tietz, NW. (ed) Fundamentals of Clinical Chemistry W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1976.
  2. Henry, R.J., Clinical Chemistry, Principles and Technics. Harper and Row Publishers. New York, 1964.
  3. Young, D.S., et al., Clin Chem. 18(10), 1972.
- Young D.S., effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.