

Bioclin

FOSFATASE ALCALINA CINÉTICA

K021

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Método para a determinação da fosfatase alcalina. Teste cinético, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Cinética IFCC

A fosfatase alcalina (ALP) hidrolisa o p-nitrofenilfosfato (p-NFF), que é incolor, produzindo fosfato e p-nitrofenol, em pH 9,0. A velocidade de aparição do ânion p-nitrofenolato (amarelo), a 405 nm, é proporcional à atividade enzimática da amostra.

A dietanolamina (DEA), além de regular o pH da reação, intervém ativamente na mesma, atuando como receptor de fosfato liberado pela enzima.

p-NFF + DEA —ALP—> p-Nitro Fenol + DEA-fosfato

REAGENTES

Número 1 - Tampão - conservar entre 2 e 8 °C.

Contém: tampão dietanolamina 1,0 mol/L pH 9,0 e azida sódica 15 mmol/L.

Número 2 - Substrato - conservar entre 2 e 8 °C. Contém: substrato p-NFF (p-nitrofenilfosfato) 10 mmol/L e azida sódica 15 mmol/L.

APRESENTAÇÃO

Apresentação	Reagente Nº 1	Reagente Nº 2
1	108 mL	12 mL
2	1 x 40 mL	1 x 10 mL
3	2 x 40 mL	2 x 10 mL
4	4 x 40 mL	4 x 10 mL
5	2 x 40 mL	1 x 20 mL
6	4 x 40 mL	2 x 20 mL
7	4 x 27 mL	1 x 12 mL
8	6 x 36 mL	1 x 24 mL
9	6 x 36 mL	2 x 12 mL
10	3 x 36 mL	1 x 12 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Espectrofotômetro termostaticado, pipetas, cronômetro, tubos de ensaio. Encontram-se no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8 °C. O transporte, em temperaturas entre 15 e 30 °C, não deverá exceder a 72 (setenta e duas) horas. **Não congelar.** Manter ao abrigo da luz e evitar umidade.

CUIDADOS ESPECIAIS

- 1 - Somente para uso diagnóstico *in vitro*;
- 2 - Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos;
- 3 - A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes;
- 4 - Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, ions diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados;
- 5 - É importante, para o bom desempenho do teste, um rigoroso controle de tempo e temperatura;
- 6 - Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.
- 7 - Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site www.bioclin.com.br ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

AMOSTRAS

Soro ou plasma (heparina) livres de hemólise. O analito é estável 07 dias entre 2 e 8 °C e 30 dias a 10 °C negativos.

INTERFERENTES

Não utilizar amostras hemolisadas ou lipêmicas, pois os resultados obtidos poderão ser falsamente elevados.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

Preparo do reagente de trabalho

Misturar nove (9) partes do Reagente Nº 1 com uma (1) parte do Reagente Nº 2. O reagente de trabalho é estável durante 14 dias, entre 2 e 8 °C. Armazenar ao abrigo da luz.

TÉCNICA

Condições de reação: é condição indispensável o uso de cubeta termostaticada a 37 °C, caminho óptico de 1cm e leitura em 405 nm.

Adicionar 20 µL de amostra a 1,0 mL do reagente de trabalho, misturar e transferir para cubeta termostaticada a 37°C e esperar 1 minuto. Fazer a leitura inicial, disparando simultaneamente o cronômetro. Repetir as leituras após 1, 2 e 3 minutos. Calcular a média das diferenças de absorbância por minuto ($\Delta A/\text{min.}$) e utilizá-la para cálculo do resultado.

DESCRIÇÃO DOS CÁLCULOS

ALP (U/L) = $\Delta A/\text{min.} \times 2757$

Os resultados serão expressos em U/L.

A reação é linear até a concentração de 1500 U/L.

Para uma variação média na absorbância a 405 nm maior que 0,25, repetir a determinação, diluindo a amostra com NaCl 0,85%. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

O método cinético baseia-se na absorvidade molar. Por essa razão, as leituras devem ser realizadas em um espectrofotômetro que cumpra as seguintes condições:

Comprimento de onda 405 nm

Semi trajetória da banda de passagem 10 nm

Luz espúria menor que 0,5%

Cubeta de 1cm termostaticada

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

Deve ser prática rotineira do laboratório clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens. Deve ser de 5% o erro máximo permitido em relação aos valores pré-estabelecidos para os controles.

VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores de referência, em U/L, para o presente método, foram obtidos através da determinação da fosfatase alcalina em populações sadias.

Adultos: 27 a 100 U/L

Crianças: 75 a 390 U/L

(Incluindo adolescentes até 15 anos).

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

DESEMPENHO DO PRODUTO

Exatidão

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS E ESPECIFICIDADE METODOLÓGICA

O Kit Fosfatase Alcalina Cinética foi comparado com outro método para dosagem de fosfatase, comercialmente disponível. Foram realizadas 07 análises e os resultados foram avaliados. A equação linear obtida foi $y = 1,0061x - 1,1957$, com coeficiente de correlação linear igual a 0,9983. Com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

Precisão

REPETIBILIDADE

Foram realizadas 20 dosagens sucessivas com três amostras com concentrações diferentes, encontrando-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (U/L)	90,05	199,05	359,30
Desvio Padrão (U/L)	1,39	4,11	4,14
Coefficiente de Variação (%)	1,55	2,06	1,15

REPRODUTIBILIDADE

Foram realizadas 20 dosagens, durante três dias consecutivos, com três amostras de concentrações diferentes, encontrando-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (U/L)	89,80	198,75	358,95
Desvio Padrão (U/L)	0,31	0,44	0,30
Coefficiente de Variação (%)	0,35	0,22	0,08

Sensibilidade

A sensibilidade foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra isenta da presença de fosfatase. A média encontrada foi 1,75 U/L, com desvio padrão de 0,44 U/L. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde a 3 vezes o desvio padrão, sendo igual a 3,083 U/L.

Linearidade

A reação é linear até a concentração de 1500 U/L. Para uma variação média na absorbância a 405 nm maior que 0,25, repetir a determinação, diluindo a amostra com NaCl 0,85%. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

A fosfatase alcalina está presente em altas concentrações nos ossos, fígado, intestino e placenta. Constitui um útil indicador de doenças hepáticas e de doenças ósseas associadas a hiperatividade osteoblástica.

As condições em que a fosfatase alcalina está aumentada são: nas doenças hepáticas e do trato biliar, na metástase do fígado e metástase óssea, na acromegalia, no hipertireoidismo, no raquitismo, na mononucleose infecciosa, na doença de Paget (atividade osteoblástica) e no crescimento ósseo fisiológico.

Valores diminuídos da fosfatase alcalina podem ser observados no hipotireoidismo, retardo de crescimento nas crianças, hipofosfatasia (erro metabólico inato) e desnutrição grave.

NÚMERO DE TESTES

120 Testes / 20 µL de amostra / 1,0 mL de Reagente de Trabalho

240 Testes / 10 µL de amostra / 0,5 mL de Reagente de Trabalho

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1 - International Federation of Clinical Chemistry (1978). Section Nº 2. Provisional recommendations on the theory of reference values. Part. I. The concept of reference values. Expert panel on the Theory of Reference Values – Clin. Chim. Acta 87/3: 459F (1978).

2 - Spandrio, L. et al – Considerazioni sulla determinazione della fosfatasi alcalina del siero com método cinético – LAB2/2:123 (1975).

3 - Gardner, M. D. et al – Frequency distribution and 'reference values' of plasma alkaline phosphatase (EC3.1.3.1) activity in the adult population of Scottish new town – J. Clin. Pathol. 31/12:1202 (1978).

4 - Demaría, °; Setta, F.; Lorenzo, L. – VIII Congreso Argentino de Bioquímica, Octubre 1990 – Revista de la Asociación Bioquímica Argentina 54/3 (1990).

GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes **Bioclin** são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.

DADOS DO FABRICANTE

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: (31) 3439.5454 - Fax (31) 3439.5455
e-mail bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente Tel.: 0800 0315454.
e-mail: sac@bioclin.com.br
Número de registro do kit de Fosfatase Alcalina Cinética na ANVISA: 10269360072.

Revisão: Dezembro/11

SIMBOLOGIA UNIVERSAL



NÚMERO DE CATÁLOGO



FABRICADO POR



NÚMERO DO LOTE



CONTROLE



DATA DE FABRICAÇÃO



CONTROLE POSITIVO



DATA DE VALIDADE
(último dia do mês)



CONTROLE NEGATIVO



LIMITE DE TEMPERATURA
(conservar a)



RISCO BIOLÓGICO



O CONTEÚDO É SUFICIENTE
PARA <N> TESTES



INFLÂMÁVEL



CONSULTAR INSTRUÇÕES
DE USO



CORROSIVO



PRODUTO PARA
DIAGNÓSTICO IN VITRO



TÓXICO