

ALKALINE PHOSPHATASE LIQUICOLOR

MÉTODO:

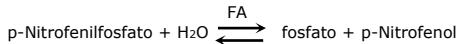
Cinético otimizado (DGKC).

FINALIDADE:

Reagentes para determinação da atividade enzimática da Fosfatase Alcalina em amostras biológicas (soro, plasma). Somente para uso diagnóstico in vitro.

FUNDAMENTO:

A velocidade de formação do p-Nitrofenol é medida em absorbância por minuto em 405 nm. A intensidade da cor amarela final é proporcional à atividade da fosfatase alcalina.



SIGNIFICADO CLÍNICO:

A atividade da Fosfatase Alcalina (FA) está presente em vários tecidos, incluindo o fígado, ossos, rins, intestinos e placenta.

Seus valores elevam-se rapidamente (10 x o valor normal) quando o fluxo biliar está prejudicado ou quando ocorrem lesões expansivas, mesmo que estas lesões sejam pequenas porém numerosas, como granulomas, ou grande e simples como uma metástase tumoral. Quando o fluxo biliar para devido a colestase intra-hepática ou obstrutiva, a AP eleva-se em 2 vezes o seu valor normal, ocorrendo em paralelo o aumento da bilirrubina sérica.

Se a obstrução é parcial, a FA eleva-se tanto quanto com a obstrução completa, mas a bilirrubina não o faz (icterícia dissociada). Quando a colestase é aliviada, a FA desce até o normal mais vagarosamente que a bilirrubina. As razões para o aumento da FA na colestase estão mais relacionadas com o aumento da síntese enzimática pelos hepatócitos do que com a excreção biliar reduzida.

Níveis elevados ocorrem também em pacientes com doenças ósseas caracterizadas pelo aumento da atividade osteoblástica. Estas doenças incluem osteíte deformante; raquitismo; osteomalácia; hiperparatireoidismo; fraturas cicatrizantes; tumores ósseos osteoblásticos. Crianças em crescimento e mulheres grávidas no 3º trimestre têm níveis de FA séricos "fisiologicamente" elevados.

Níveis mais baixos que o normal são observados em pacientes com hipofosfatasia (um erro inativo de metabolismo) e em pacientes desnutridos.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:

Conservar entre 2 a 8°C.

Reagentes:

BUF - Tampão: Dietanolamina - DEA (pH 10,35) 1,25 mol/L; Cloreto de magnésio 0,625 mmol/L e Azida sódica 0,095 %.

RGT - Substrato: p-Nitrofenilfosfato 50 mmol/L e Azida sódica 0,095%.

PREPARO DO REAGENTE DE USO:

Adicionar 2 mL do substrato (SUB) a 8 mL do tampão (BUF). Homogeneizar.

ESTABILIDADE:

Os reagentes são estáveis, mesmo após abertos, até a data de validade impressa no rótulo, quando armazenados a 2 - 8°C. Não congelar. Evitar contaminação dos reagentes.

Reagente de uso: Este reagente é estável por 4 semanas a 2 - 8°C ou 5 dias a 15 - 25°C.

O reagente de uso deve ser protegido da luz.

TRANSPORTE:

O transporte do kit deve ser feito pela rota mais direta evitando-se as chegadas nos finais de semana e feriados no local de destino. O kit não é afetado pelo transporte desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 07 dias e em uma temperatura de até 37°C.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES:

- Durante a reação o p-nitrofenol é produzido. Esta substância é tóxica quando inalada, ingerida ou absorvida pela pele;
- Manter no frasco original;
- Usar equipamentos de proteção necessários;
- Em caso de contato desta solução com a pele ou mucosa, lavar com bastante água e procurar um médico;
- Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação dos reagentes. A solução tampão (BUF) e o substrato (SUB) contém azida sódica como conservante. Não ingerir ou aspirar. Evitar contato com a pele e mucosa;
- Como não se pode assegurar que amostras biológicas e soros controle não transmitam infecções, recomenda-se manuseá-los de acordo com as instruções de biossegurança;
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.
- Os riscos residuais do kit, de acordo com critérios pré-determinados, são aceitáveis em comparação aos benefícios proporcionados pelo uso. A análise de risco foi realizada de acordo com a ISO 14971, relacionada à data final e levando em consideração a atual informação de registro.

AMOSTRAS BIOLÓGICAS:

SORO ou PLASMA heparinizado (Isentos de hemólise).

Perda de atividade:

7 dias entre 2-8°C: 0%

7 dias entre 20-25°C: 10%

Citrato, oxalato, EDTA ou Ca⁺⁺, produzem inibição nos resultados. E a presença de Mg⁺⁺ e Zn⁺⁺ produz uma ativação nos resultados.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Fotômetro UV/VIS.
- Pipetas.
- Cronômetro.
- Banho-maria ou incubador.

MÉTODO DE ANÁLISE:

A - Termostatar os reagentes e as cubetas à temperatura desejada.

A temperatura deve permanecer constante (± 0,5°C) durante a execução do teste.

B - Leitura em espectrofotômetro:

Comprimento de onda: 405 nm (400 - 420 nm)

Cubeta: 1cm

Temperatura: 25°C, 30°C ou 37°C

Medida: Contra o ar (aumento de absorbância)

C- PROCEDIMENTO:

Pipetar nas cubetas	25°C, 30°C, 37°C
Amostra	20 µL
Reagente de uso	1,0 mL
Homogeneizar, ler a absorbância após 1 minuto, acionar o cronômetro ao mesmo tempo. Ler novamente a absorbância exatamente após 1, 2 e 3 minutos.	

D - CÁLCULO

Calcular a média das diferenças das absorbâncias por minuto (ΔA/min):

$$\Delta A/\text{min} = [(A1 - A0) + (A2 - A1) + (A3 - A2)]/3$$

Para calcular a atividade (U/L) da Fosfatase Alcalina, basta multiplicar o, ΔA/min x 2757.

Exemplo:

Temp. 25°C - 405 nm

A0 = 1,184

A1 = 1,227

A2 = 1,270

A3 = 1,315

$$\Delta A/\text{min} = [(1,227 - 1,184) + (1,270 - 1,227) + (1,315 - 1,270)]/3$$

$$\Delta A/\text{min} = 0,044$$

$$U/L = 0,044 \times 2757 = 120 \text{ U/L}$$

Fator de conversão de unidades internacionais (U/L) para o sistema internacional-SI (Kat/L):

$$1 \text{ U/L} = 16,67 \times 10^{-3} \text{ Kat/L} = 16,67 \times 10^{-3} \mu\text{Kat/L}$$

$$1 \mu\text{Kat/L} = 60 \text{ U/L}$$

TÉCNICA ALTERNATIVA:

Para laboratórios cuja rotina é pequena, pode-se preparar menor volume de reagente de uso, guardando a proporção de 2 do SUB para 8 do BUF ou utilizar o seguinte procedimento:

Pipetas nas Cubetas	25°C, 30°C, 37°C
Amostra	20 µL
Tampão (BUF)	1,0 mL
Homogeneizar, incubar por 1 minuto à temperatura desejada.	
Substrato (SUB)	250 µL
Homogeneizar, ler a absorbância após 1 minuto e acionar o cronômetro ao mesmo tempo. Ler novamente a absorbância após exatamente 1, 2 e 3 minutos.	

CÁLCULO:

Calcular a média das diferenças das extinções por minuto (ΔA/min).

Para calcular a atividade da fosfatase alcalina (U/L) basta multiplicar o ΔA/min x 3433.

Exemplo:

Seguir o exemplo utilizado na técnica anterior, modificando apenas o valor do fator para calcular a atividade da fosfatase alcalina (ΔA/min x 3433).

Nota: Para métodos Macro multiplicar o volume por 2 nas técnicas normal e alternativa.

CONTROLE DE QUALIDADE:

Todo soro controle contendo valores determinados pelo método cinético-colorimétrico para a fosfatase alcalina pode ser empregado. Recomendamos o uso de nossos soros controle HUMATROL e SERODOS.

AUTOMAÇÃO:

Adaptação especial para analisadores automáticos pode ser fornecida quando solicitada.

LINEARIDADE DA REAÇÃO:

A reação é linear até cerca de 700 U/L.

Se a média das diferenças das absorbâncias por minuto (ΔA/min) exceder a 0,250, diluir 0,1 mL da amostra com 0,5 mL de solução salina (0,9%) e repetir o teste, usando esta diluição. Multiplicar o resultado por 6.

VALORES DE REFERÊNCIA:

Temperatura	25°C	30°C	37°C
Mulher	40-190 U/L	49-232 U/L	64-306 U/L
Homem	50-190 U/L	61-232 U/L	80-306 U/L

REV. 01/19

InVitro

Criança até 15 anos	Até 400 U/L	Até 488 U/L	Até 644 U/L
De 15 a 17 anos	Até 300 U/L	Até 366 U/L	Até 483 U/L

SENSIBILIDADE:

Sensibilidade 3,48 U/L

REPETIBILIDADE:

	N	Média	DP	CV
Valor baixo	36	42	1,26	3,0
Valor médio	36	267	7,27	2,7
Valor alto	36	938	22,2	2,4

REPRODUTIBILIDADE:

	N	Média	DP	CV
Valor baixo	36	42	1,5	3,5
Valor médio	36	267	8,3	3,1
Valor alto	36	938	25	2,7

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:

O kit Fosfatase Alcalina (FA) cinética foi comparado com outros métodos para dosagem da FA comercialmente disponíveis. Soros controle assim como 54 amostras de pacientes foram usados na comparação.

Foram avaliados os resultados obtidos pelos métodos utilizados e também através de uma equação de regressão não-paramétrica de acordo com Bablock & Passing. A equação da regressão linear obtida foi: $Y = -1,8810 + 0,9881X$, e o coeficiente de correlação igual a $r = 0,996$. Ambos os métodos mostraram uma boa concordância e um desvio não significativo foi observado em algumas amostras específicas.

RECUPERAÇÃO EM SOROS CONTROLES:

Soros controle comerciais disponíveis foram usados. Os soros controle foram reconstituídos/preparados de acordo com as instruções do fabricante. Doze determinações de cada soro controle foram feitas com reagentes da Fosfatase Alcalina cinética de diferentes lotes. A média dos valores foi calculada e comparada com a média fornecida pelos respectivos soros controle.

INTERFERENTES:

Acrescentaram-se substâncias potencialmente interferentes como triglicérides, hemoglobina, bilirrubina e ácido ascórbico em um pool de soro com concentração normal de fosfatase alcalina. As recuperações foram analisadas de acordo com o método de Glick et al. (Clin. Cem. 1986, 32 470-5). Os resultados foram que não ocorreu interferência de triglicérides em até 2500 mg/dL, hemoglobina em até 500 mg/dL, bilirrubina em até 40 mg/dL e ácido ascórbico em até 20 mg/dL.

APRESENTAÇÃO:

Cat. Nº	Reagente	Volume	Nº Teste
12017-100	BUF	1 x 80 mL	100
	RGT	1 x 20 mL	

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:

Telefax (031) 3067-6400; e-mail: invitroms@invitro.com.br

No DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

BIBLIOGRAFIA:

- 1- Schlebusch, H. et al., Dtsch. med. Wschr. 99 765 (1974).
- 2- Rick, W.; Klinische Chemie Und Mikroskopie, Springer Verlag, Berlin 6ª edição (1990). p. 294.
- 3- Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 8, 658 (1970), 10, 182 (1972).

Produzido e Distribuído por In Vitro Diagnóstica Ltda

Rua Cromita, 278, Distrito Industrial – Itabira/MG. CEP: 35903-053

Telefone: 31-3067-6400 – Fax: 31-3067-6401

e-mail: invitroms@invitro.com.br

Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF 4463

Reg. M.S. 10303460392 Classe de Risco: II

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO



O conteúdo é suficiente para <n> testes



Data limite de utilização



Limite de temperatura (conservar a)



Número do Catálogo



Consultar Instrução de Uso



Número do lote



Produto Diagnóstico In Vitro



Data de Fabricação