

# FOSFATASE ALCALINA LIQUICOLOR

## MÉTODO:

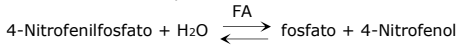
Cinético otimizado (DGKC).

## FINALIDADE:

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

## FUNDAMENTO:

A determinação da Fosfatase Alcalina (FAL) é feita através de método cinético com o emprego do 4-nitrofenilfosfato. É recomendado pela Associação de Química Clínica da Alemanha (DGKC). Neste método, o 4-nitrofenilfosfato é hidrolisado especificamente pela fosfatase alcalina do soro em pH 9,8, liberando o 4-nitrofenol, cuja velocidade de formação, medida em 405 nm, é proporcional à atividade da enzima presente na amostra.



## SIGNIFICADO CLÍNICO:

A atividade da Fosfatase Alcalina (FAL) 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 FAL eleva-se em 2 vezes o seu valor normal, ocorrendo em paralelo o aumento da bilirrubina sérica.

Se a obstrução é parcial, a FAL eleva-se tanto quanto com a obstrução completa, mas a bilirrubina não o faz (icterícia dissociada). Quando a colestase é aliviada, a FAL desce até o normal mais vagarosamente que a bilirrubina. As razões para o aumento da FAL 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; hiperparatiroidismo; fraturas cicatrizantes; tumores ósseos osteoblásticos. Crianças em crescimento e mulheres grávidas no 3º trimestre têm níveis de FAL séricos "fisiologicamente" elevados.

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

## IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:

Conservar entre 2 a 8°C.

### Reagentes:

**[RGT1] - Tampão:** Dietanolamina 1 mmol/L pH 10,2; cloreto de magnésio 0,5 mmol/L; azida sódica 0,09% p/v.

**[RGT2] - Substrato:** Nitrofenilfosfato 10 mmol/L; azida sódica 0,09% p/v.

### PREPARO DO REAGENTE DE USO:

Adicionar 1 mL do Substrato (RGT2) a 4 mL do Tampão (RGT1). 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.

### TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:

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

### CONDIÇÕES DE 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 transporte deve ser realizado em temperaturas entre 2 e 8°C, conforme condições de conservação do produto. Não congelar e manter ao abrigo da luz.

### PRECAUÇÕES:

- Durante a reação o 4-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 (RGT1) e o substrato (RGT2) 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).

### Estabilidade:

Perda de atividade:

7 dias entre 2-8°C: 0%

7 dias entre 20-25°C: 10%

Citrato, oxalato, EDTA ou Ca<sup>++</sup>, produzem inibição nos resultados. E a presença de Mg<sup>++</sup> e Zn<sup>++</sup> 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 ( $\pm 0,5^\circ\text{C}$ ) 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 $\mu\text{L}$
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 ( $\Delta A/\text{min}$ ):

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

Para calcular a atividade (U/L) da Fosfatase Alcalina, basta multiplicar o,  $\Delta A/\text{min}$  x 2757.

### Exemplo:

Temp. 25°C - 405 nm

A0 = 1,184

A1 = 1,227

A2 = 1,270

A3 = 1,315

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

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

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

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

$$1 \text{ U/L} = 16,67 \times 10^{-9} \text{ Kat/L} = 16,67 \times 10^{-3} \mu\text{Kat/L}$$

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

### 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 $\mu\text{L}$
Tampão (BUF)	1,0 mL
Homogeneizar, incubar por 1 minuto à temperatura desejada.	
Substrato (SUB)	250 $\mu\text{L}$
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 ( $\Delta A/\text{min}$ ).

Para calcular a atividade da fosfatase alcalina (U/L) basta multiplicar o  $\Delta A/\text{min}$  x 3433.

Exemplo:

Seguir o exemplo utilizado na técnica anterior, modificando apenas o valor do fator para calcular a atividade da fosfatase alcalina ( $\Delta A/\text{min}$  x 3433).

### CALIBRAÇÃO:

Para a calibração recomenda-se o uso do calibrador AUTOCAL de acordo com os procedimentos descritos em sua instrução de uso e tabela com valores. Inserir no analisador o valor definido para este parâmetro.

Recomendamos a verificação da validade da calibração antes de cada corrida.

A recalibração deve ser realizada quinzenalmente ou:

- Sempre que os controles se encontrarem fora da faixa;
- Depois da troca de lote de reagente;
- De acordo com o requerido no controle de qualidade interno.

### CONTROLE DE QUALIDADE:

Todo soro controle contendo valores determinados para o método cinético (DGKC) para a fosfatase alcalina pode ser empregado. Recomendamos o uso de nossos soros controle da linha HUMATROL e da linha 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.

**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
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 2,08 U/L

**REPETIBILIDADE:**

	N	Média	DP	CV%
SC1	25	144	1,27	0,89
SC2	25	667	5,65	0,85

**REPRODUTIBILIDADE:**

	N	Média	DP	CV%
SC1	25	163	3,56	2,18
SC2	25	387	9,62	2,48

**COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:**

Soros controle, bem como amostras de pacientes foram utilizados na comparação (N=27). Os resultados foram avaliados por componente principal de análise e por um modelo de regressão não paramétrica de acordo com Bablok & Passing. A regressão linear obtida pode ser descrita como segue

$$y = 1,0926x - 6,4008$$

$$R^2 = 0,9951$$

Média referência: 215 mg/dL

Média Teste: 228 mg/dL

Ambos os métodos mostraram uma boa concordância e um desvio não significativo foi observado em algumas amostras específicas.

**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
061100	RGT1	1 x 80 mL
	RGT2	1 x 20 mL
061-IV1/2	RGT1	2 x 40 mL
	RGT2	2 x 10 mL
061-IV3/4	RGT1	2 x 40 mL
	RGT2	2 x 10 mL

**DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:**

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto.

Telefone: **31 3067-6400** e-mail: [invitroms@invitro.com.br](mailto:invitroms@invitro.com.br)

**Fabricante:** In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053.

**Regularizado por:** In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053. CNPJ: 42.837.716/0001-98.

Telefone: 31 3067-6400 e-mail: [invitroms@invitro.com.br](mailto:invitroms@invitro.com.br)

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

ANVISA: 10303460535 Classe de Risco: II

**BIBLIOGRAFIA**

- 1- In Vitro Diagnóstica – Dossiê Técnico do Produto.
- 2- Documentos de transferência de tecnologia

**SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO**

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