

FOSFATASE ALCALINA LIQUICOLOR

MÉTODO:

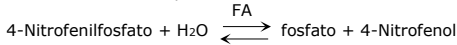
Cinético otimizado (DGKC).

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, intestino 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; hiperparatireoidismo; 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 transmitem 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⁺⁺, 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 ($\pm 0,5^\circ\text{C}$) 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 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 ($\Delta A/\text{min}$):

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

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

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

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

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

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 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 ($\Delta A/\text{min}$).

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	Nº de Testes
061100	RGT1	1 x 80 mL	100
	RGT2	1 x 20 mL	
616	RGT1	1 x 60 mL	Varia de acordo com o equipamento
	RGT2	1 x 15 mL	

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto.

Telefone: **31 3067-6400** e-mail: invitroms@invitro.com.br

Fabricado e 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

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