

# Fosfatase Alcalina liquicolor - SNIBE

## MÉTODO

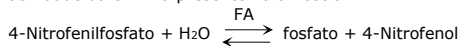
Cinético otimizado (DGKC).

## FINALIDADE

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

## 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; 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.

**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. 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.

## 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.

## 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.

## 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 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

**Tipo de amostra:** Soro ou Plasma heparinizado (livres de hemólise).

## Estabilidade das amostras:

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.

- O transporte da amostra biológica, quando necessário, deve ser feito pela rota mais direta e evitando sua chegada nos finais de semana e feriados no local de destino. A amostra biológica deve ser acondicionada em recipiente hermeticamente fechado, em seguida embalada de forma a mantê-la em temperatura recomendada (2 a 8°C) desde o remetente até a entrega ao destinatário. Esta amostra deve ser identificada com o símbolo de amostra biológica.

## MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

Equipamento de bioquímica automático, pipeta, ponteira e lixo para descarte. Os materiais não fornecidos podem ser adquiridos no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

## 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 de teste:

|                                                                                                                                                   |                  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| 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. |                  |

## CÁLCULOS

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

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

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

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

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

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

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

## Técnica Alternativa

Para laboratórios cuja rotina é pequena, pode-se preparar menor volume de reagente de uso, guardando a proporção de 2 do **RGT2** para 8 do **RGT1** ou utilizar o seguinte procedimento:

## Procedimento de teste:

|                                                                                                                                                    |                  |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| Pipetas nas Cubetas                                                                                                                                | 25°C, 30°C, 37°C |
| Amostra                                                                                                                                            | 20 µL            |
| Tampão <b>RGT1</b>                                                                                                                                 | 1,0 mL           |
| Homogeneizar, incubar por 1 minuto à temperatura desejada.                                                                                         |                  |
| Substrato <b>RGT2</b>                                                                                                                              | 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. |                  |

## CÁLCULOS

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).

## 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.

## 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 |

## 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 de bioquímica está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada para o Departamento de Serviços Associados.

## RASTREABILIDADE

O kit Fosfatase Alcalina liquicolor é calibrado com AUTOCAL, que é rastreável ao material de referência empregando tampão DEA.

## CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

### Exatidão

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.

### Precisão

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 |

### Sensibilidade

A sensibilidade encontrada foi de 2,08 U/L.

### Linearidade

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

### 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 DO KIT

| Nº Cat. | Reagente | Volume    |
|---------|----------|-----------|
| 812-2   | RGT1     | 2 x 60 mL |
|         | RGT2     | 2 x 15 mL |

## BIBLIOGRAFIA

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

## DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:

Telefone: +55(31) 3067-6400 E-mail: [invitroms@invitro.com.br](mailto:invitroms@invitro.com.br)

N.º DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

**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: +55(31) 3067-6400 E-mail: [invitroms@invitro.com.br](mailto:invitroms@invitro.com.br)

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

ANVISA: 10303460582 Classe de risco: II

## 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