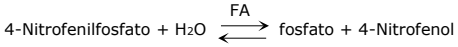
Fosfatase Alcalina liquicolor - SNIBE

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 granulosas, 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 hipofosfatasia (um erro inativo de metabolismo) e em pacientes desnutridos.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO
Conservar entre 2 a 8ºC.

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 - 8ºC ou 5 dias a 15 - 25ºC. 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 - 8ºC. 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 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
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^{++}, produzem inibição nos resultados. E a presença de Mg^{++} e Zn^{++} 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 8ºC) 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 - Termostatizar os reagentes e as cubetas à temperatura desejada. A temperatura deve permanecer constante (± 0,5ºC) durante a execução do teste.

B - Leitura em espectrofotômetro:
Comprimento de onda: 405 nm (400 - 420 nm)
Cubeta: 1cm
Temperatura: 25ºC, 30ºC ou 37ºC
Medida: Contra o ar (aumento de absorbância)

C- Procedimento de teste:

Pipetar nas cubetas	25ºC, 30ºC, 37ºC
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):
ΔA/min = [(A1- A0) + (A2- A1) + (A3- A2)]/3

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

Exemplo:
Temp. 25ºC - 405 nm

A0 = 1,184
A1 = 1,227
A2 = 1,270
A3 = 1,315

ΔA/min = [(1,227-1,184) + (1,270-1,227) + (1,315-1,270)]/ 3

ΔA/min = 0,044

U/L = 0,044 x 2757 = 120 U/L

Fator de conversão de unidades internacionais (U/L) para o sistema internacional-SI (Kat/L):
1 U/L = 16,67 x 10^{-9} Kat/L = 16,67 x 10^{-3} µKat/L
1 µKat/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	25ºC, 30ºC, 37ºC
Amostra	20 µL
Tampão RGT1	1,0 mL
Homogeneizar, incubar por 1 minuto à temperatura desejada.	
Substrato RGT2	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 Multicalibrador de Bioquímica - Snibe 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	25ºC	30ºC	37ºC
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

REV. 07/26

CONTROLE DE QUALIDADE
Todo soro controle contendo valores determinados para o método cinético (DGKC) para a fosfatase alcalina pode ser empregado. Recomendamos a utilização de nossos soros controle da linha Multicontrole de Bioquímica - Snibe.

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 Multicalibrador de Bioquímica - Snibe, 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
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
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