



FOSFATASE ALCALINA

INSTRUÇÕES DE USO

MÉTODO:

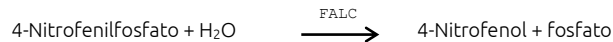
Teste Cinético DGKC.

FINALIDADE:

Kit para a determinação da atividade da fosfatase alcalina no soro e plasma. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO:

Em pH alcalino, a fosfatase alcalina do soro hidrolisa o 4-nitrofenilfosfato e libera o 4-nitrofenol mais fosfato. O 4-nitrofenol produzido tem cor amarelada e pode ser medido em 405 nm. Sua produção é proporcional a quantidade de fosfatase alcalina presente na amostra.



SIGNIFICADO CLÍNICO:

A fosfatase alcalina pode ser encontrada em diversos tecidos. Quadros de obstrução do fluxo biliar e de lesões expansivas estão associados a marcantes elevações dessa enzima. Níveis elevados da FALC também são encontrados em tumores ósseos e doença de Paget. Em quadros de colestase intra-hepática ou obstrutiva, a FALC se eleva em até duas vezes seu valor normal. Paralelamente, ocorre a elevação da bilirruína sérica. Em quadros de obstrução parcial a FALC eleva-se em até duas vezes seu valor normal, mas a bilirrubina não acompanha essa elevação. Níveis baixos de fosfatase alcalina são observados em pacientes com hipofosfatasia e em pacientes desnutridos.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO DOS REAGENTES:

Conservar entre 2° e 8 °C

R1 - Tampão: Dietanolamina 1,0 mmol/L; cloreto de magnésio 0,5 mmol/L; azida sódica 0,09% p/v.

R2 - Substrato: 4-nitrofenilfosfato 10 mmol/L; azida sódica 0,09% p/v.

PREPARO DOS REAGENTES

Misturar 4 partes do R1 a uma parte do R2. Homogeneizar suavemente.

ESTABILIDADE:

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo quando armazenados à temperatura de 2 a 8 °C, bem vedados e se for evitada a contaminação durante o uso. Não congelar, evitar exposição prolongada à luz. Manter os reagentes em temperatura ambiente somente o tempo necessário para execução dos testes.

O reagente de uso é estável por até 4 semanas após seu preparo se armazenado sob temperatura de 2 a 8 °C. Manter o reagente de uso ao abrigo da luz.

TRANSPORTE:

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 entre 2 e 8 °C e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS:

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação do reagente. O reagente R2 possui azida sódica e o reagente R1 apresenta pH elevado. Não ingerir ou aspirar. Evitar contato com a pele e mucosa;
- Recomendamos a aplicação das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos para a execução do teste;
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes;
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental;
- Não misturar reagentes de lotes diferentes;
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, evitando contaminação cruzada.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Espectrofotômetro UV/VIS;
- Tubos e pipetas;
- Banho-maria ou termostatizador na temperatura constante de 37 °C;
- Cronômetro.

AMOSTRAS BIOLÓGICAS

• SORO, PLASMA (Heparina)

A amostra é estável se armazenada entre 2 e 8 °C até 7 dias. A atividade da fosfatase alcalina apresenta aumento real de 2% ao dia.

INTERFERÊNCIAS

Citrato, oxalato, EDTA e fluoreto interferem na dosagem. Hemoglobina > 180mg/dL, bilirrubina > 20mg/dL e triglicérides > 1200 mg/dL podem causar resultados alterados. Presença de íons magnésio e íons zinco causam elevação dos resultados. Amostras de pacientes que fazem uso de vitamina C não devem ser utilizadas. O ácido ascórbico interfere na dosagem.

PROCEDIMENTO DO TESTE

1. Observações

- O nível de água no banho-maria deve ser superior ao dos reagentes nos tubos;
- A observação minuciosa da limpeza e secagem da vidraria, da estabilidade dos reagentes, da pipetagem, da temperatura e do tempo de reação é de extrema importância para se obter resultados precisos e exatos;
- A água utilizada nos laboratórios clínicos deve ser purificada utilizando-se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, amins e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

2. Termostatar o reagente

Ajustar a temperatura do banho-maria ou termostatizador para 37 °C. A temperatura deve permanecer constante durante a realização do teste.

3. Leitura do teste

Comprimento de onda: 405nm;
Cubeta: 1cm;

Temperatura: 37 °C;

Medição: Zerar a absorbância contra branco (água deionizada). É necessário apenas um branco por bateria de testes.

4. Procedimento

Preparo do reagente: O reagente para o teste deve ser preparado na proporção de 4 partes de R1-TAMPÃO e 1 parte de R2-SUBSTRATO, homogeneizar suavemente. O reagente de trabalho é estável por até 04 semanas em temperatura de 2 a 8 °C.

Pipetar na Cubeta	Amostra
Amostra	20µL
Reagente	1000µL

Procedimento: Pipetar o reagente em um tubo de ensaio, homogeneizar e imediatamente incubar a 37 °C. Acionar o cronômetro. Após 1 minuto, ler a absorbância inicial (A₀). Efetuar novas leituras a cada 60 segundos, por 03 minutos (A₁, A₂ e A₃).

5. Cálculos:

Após efetuadas as leituras das absorbâncias, calcular a média de variação das absorbâncias por minuto (ΔA/min).

$$\Delta A/\text{min} = [(A_0 - A_1) + (A_1 - A_2) + (A_2 - A_3)] / 3$$

Para calcular a atividade da FALC (U/L), deverá ser usado o fator:

$$\text{FALC (U/L)} = \Delta A/\text{min} \times 2750$$

Exemplo: (A₀=1,174) (A₁=1,228) (A₂=1,269) (A₃=1,317)

$$\Delta A/\text{min} = \frac{(1,228 - 1,174) + (1,269 - 1,228) + (1,317 - 1,269)}{3}$$

$$\Delta A/\text{min} = 0,048$$

$$\text{FALC (U/L)} = 0,048 \times 2750$$

$$\text{FALC (U/L)} = 131,08 \text{ U/L}$$

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

1. Linearidade da reação:

A linearidade do método é de até 700 U/L.

Para amostras com concentrações mais elevadas, diluir as amostras com 1 + 2 em solução salina a 0,9% e repetir a determinação. Multiplicar o resultado por 3.

2. Valores de referência

Valores Normais:	37 °C
Mulheres	64 – 306 U/L
Homens	80 – 306 U/L
Crianças/Jovens até 15 anos	até 644 U/L
Jovens até 17 anos	até 483 U/L

Estes valores devem ser utilizados como uma orientação. É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência. Conversão para SI: FALC(U/L) x 0,017 = FALC(µKat/L)

3. Sensibilidade

2,5 U/L

4. Comparação de métodos

O kit para a dosagem da fosfatase alcalina foi comparado com outros kits comercialmente disponíveis. Amostras diversas foram utilizadas na comparação dos testes, dentre essas, soros controle e amostras de pacientes. Os resultados obtidos mostraram boa concordância.

5. Repetibilidade e reprodutibilidade

Foram utilizados soros controle comercialmente disponíveis para a avaliação da repetibilidade e reprodutibilidade do kit. Os soros foram reconstituídos e/ou preparados seguindo as recomendações do fabricante. Trinta determinações dos soros controle foram realizadas com o kit de Fosfatase Alcalina da VIDA Biotecnologia para a determinação da repetibilidade e 10 determinações por soro controle para a reprodutibilidade. As médias das determinações foram calculadas e comparadas com os valores alvo.

5.1 Repetibilidade

Soro Controle	N	Média dos valores obtidos	DP	CV (%)
SC1	30	43	1,31	3,05
SC2	30	281	7,42	2,64
SC3	30	945	19,43	2,06

5.2 Reprodutibilidade

Soro Controle	N	Média dos valores obtidos	DP	CV
SC1	10	44	1,43	3,25
SC2	10	283	7,59	2,68
SC3	10	947	21,24	2,24

6. Controle de qualidade

Foram utilizados soros controle comercialmente disponíveis para a avaliação do kit. Os soros foram reconstituídos e/ou preparados seguindo as recomendações do fabricante. Dez determinações dos soros controle foram realizadas com o kit de Fosfatase Alcalina da VIDA Biotecnologia. As médias das determinações foram calculadas e comparadas com os valores alvo.

Soro Controle	Valor alvo	Média dos valores obtidos	% de Recuperação
SC1	75	79	105%
SC2	284	291	103%
SC3	751	763	102%

Todo soro controle com valores determinados para a fosfatase alcalina, pelo método DGKC, pode ser utilizado.

RISCOS RESIDUAIS IDENTIFICADOS

As medidas de redução dos riscos foram implementadas e o produto não apresenta riscos maiores que os benefícios obtidos com o seu uso; e se usado por profissionais qualificados e treinados, cientes das precauções descritas nos produtos, desempenhará suas funções com qualidade, segurança e eficácia.

APRESENTAÇÃO DO KIT

CÓDIGO	REAGENTE	VOLUME	NÚMERO DE DETERMINAÇÕES
100/360-100	R1-TAMPÃO	1 X 80 mL	100
	R2-SUBSTRATO	1 x 20 mL	
100/360-200	R1-TAMPÃO	2 X 80 mL	200
	R2-SUBSTRATO	2 x 20 mL	

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- GERMAN SOCIETY FOR CLINICAL CHEMISTRY. Standard method for determination for alkaline phosphatase (AP) activity. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. V.10, p.290 .1972.
- 2- YOUNG, D.S. Effects of drugs on clinical laboratory tests - vol. 2, 5 ed. Washington DC: AACC Press, 2000.
- 3- WESTGARD, J. O. et al. A multi-rule shewhart chart quality control in clinical chemistry. Clin. Chem. v.27 p.493-501, 1981.
- 4- HEIL, W.; KOBERSTEIN, R.; ZAWTA, B. Reference ranges for adults and children - pre-analytical considerations. Roche Diagnostics GmbH Report, p.16, 2000.
- 5- Rosalki SB, Foo AY, et al. Multicenter evaluation of iso-ALP test kit for measurement of bone alkaline

INFORMAÇÕES AO CONSUMIDOR:

A VIDA Biotecnologia garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nessa instrução sejam seguidos corretamente.

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

PRODUZIDO E DISTRIBUÍDO POR: VIDA Biotecnologia LTDA















CNPJ: 11.308.834/0001-85

Avenida José Cândido da Silveira 2100 – Horto Florestal – CEP 31035-536; Belo Horizonte. Minas Gerais – www.vidabiotecnologia.com.br
Departamento de Serviços Associados | (31)34663351; dsa@vidabiotecnologia.com.br

Responsável Técnico.: Renato Silva CRBIO4 – 57360/04-D

Reg. M.S.: 80785070035

Rev.: 01/2022

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NO RÓTULO DO PRODUTO	
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa)
	Material Calibrador
	Limite de temperatura (conservar a)
	Consultar instruções de uso
	Número de catálogo
	Produto para Diagnóstico In Vitro
	Liofilizado
	Corrosivo
	Risco Biológico
	Tóxico
	Reagente
	Data de Fabricação (mm/aaaa)
	Número de Lote