

Instruções de uso

Fosfatase Alcalina • AMP/IFCC

Kit para determinação da fosfatase alcalina em amostras de soro ou plasma.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

Significado Clínico

No fígado, a fosfatase alcalina é encontrada nos canalículos biliares. Sua produção é aumentada pela obstrução biliar (colestase) e, em menor grau, por outras doenças hepáticas. A isoenzima óssea está presente em osteoblastos ativo. Dessa forma, níveis elevados são encontrados em fraturas convalescentes, na infância e principalmente durante o crescimento puberal, quando alcança níveis superiores a 650 U/L. A fosfatase alcalina de origem hepática é comumente encontrada com um aumento da gama GT, indicando obstrução de via hepática.

Metodologia e princípio do teste

A fosfatase alcalina, em meio alcalino, catalisa a transferência do grupo fosfato do 4-nitrofenilfosfato ao 2-amino-2metil-1-propanol (AMP), liberando 4-nitrofenol. A concentração catalítica é determinada a partir da velocidade de formação do 4-nitrofenol, medido em 405 nm, sendo diretamente proporcional a atividade enzimática da amostra.



Composição dos reagentes

R1 Tampão: 2-amino-2metil-1-propanol 0,35 mmol/L, acetato de magnésio 2 mmol/L, sulfato de zinco 1 mmol/L, ácido N-hidroxietilenodiaminotriacético 2mmol/L, pH 10,4. **R2 Substrato:** 4-nitrofenilfosfato 12 mmol/L.

Os reagentes, quando armazenados nas condições recomendadas, são estáveis até a data de validade expressa no rótulo do produto.

Apresentações

Código	R1	R2	Testes	
0011	1x80 mL	1x 20 mL	Macro 100	Micro 200

O número de testes em equipamentos automatizados dependerá do protocolo de automação utilizado.

Materiais necessários não fornecidos

- Água destilada ou deionizada;
- Banho maria;
- Cronômetro;
- Espectrofotômetro;
- Pipetas manuais ou automáticas;
- Ponteiras descartáveis;
- Vidraria.

Armazenamento, transporte e validade

Armazenar os reagentes entre 2-8 °C em sua embalagem original.

Os produtos poderão ser transportados, por até 48 horas, entre 2-30 °C. A data de validade se encontra no rótulo do produto.

Precauções e cuidados especiais

- Não misturar ou trocar lotes de reagentes diferentes;
- Evitar contaminação microbiana dos reagentes e não utilizar reagentes que tenham sinais de contaminação ou precipitação;
- Caso haja contato com quaisquer reagentes, lavar a área afetada com água em profusão. Em caso de ingestão de reagentes, procurar auxílio médico imediato munidos desta instrução de uso;
- Utilizar equipamentos de proteção individual segundo normas de biossegurança;
- A água (destilada ou deionizada) utilizada na limpeza do material ou nos procedimentos deve ser recente e isenta de agentes contaminantes;
- Certificar-se das condições adequadas de funcionamento dos equipamentos de análise;
- O descarte do material utilizado deve ser feito segundo os critérios de biossegurança;
- Lavar as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.

Amostra biológica

Soro/plasma

O analito é estável por 7 dias entre 2 a 8 °C.

Nota

Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante. Usar luvas descartáveis durante a manipulação do material biológico. As amostras devem ser descartadas, após o uso, em recipientes específicos para este fim. Não dispensar em coletores de lixo comuns ou nas redes de esgoto.

Interferentes pré-analíticos

Hemoglobina (5 g/L) interfere. Outras substâncias podem interferir.

Preparo do reagente

Verter o conteúdo do frasco **R2** no frasco **R1** e homogeneizar bem. É recomendável a transferência de parte do homogeneizado para o frasco **R2**, com o objetivo de se obter a diluição completa do reagente contido no mesmo. Após homogeneizar, verter novamente o conteúdo no frasco **R1**. Rotular como Reagente de Trabalho. Este reagente é estável, sob refrigeração, na faixa de 2 a 8 °C, durante 2 meses, se mantido fora do refrigerador somente o tempo necessário para as dosagens.

Nota

Podem ser preparados volumes menores de reagente de trabalho, desde que respeitada a proporção de 1mL do **R2** + 4mL do **R1**.

Procedimento

Permitir que reagentes e amostras atinjam a temperatura ambiente.

Passo 1 Pipetar, em diferentes tubos de ensaio, como a seguir:

Método	Macro	Micro
Amostra	20 µL	10 µL
Reagente de trabalho	1,0 mL	0,5 mL

Passo 2 Acertar o zero do espectrofotômetro utilizando água destilada ou deionizada;

Passo 3 Homogeneizar rapidamente e inserir em um porta cubetas termostatzado a 37 °C;

Passo 4 Ler e registrar a absorbância inicial (A0), em 405 nm, e acionar o cronômetro;

Passo 5 Realizar novas leituras (A1, A2 e A3), em intervalos de 1 minuto durante 3 minutos;

Passo 6 Comprovar que as diferenças entre as absorbâncias sejam sensivelmente iguais;

Passo 7 Calcular a média das diferenças das absorbâncias ($\Delta A/\text{min.}$), que será usada nos procedimentos de cálculo.

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

Cálculos

Considerando que o coeficiente de absorção molar do 4-nitrofenol é 18.450 em 405 nm, se deduzem as seguintes fórmulas para calcular a concentração catalítica a 37°C:

$$\Delta A/\text{min.} \times 2764 = \text{U/L} \quad \bullet \quad \Delta A/\text{min.} \times 46,08 = \mu\text{kat/L}$$

Valores de referência

Soro/Plasma (37 °C - U/L)

Adultos

Homens	< 115
Mulheres	< 105

Pediátricos

7 – 12 meses	< 1107
2 – 6 anos	< 673
7 – 12 anos	< 448

Nota

Estes valores são apenas a título orientativo. É recomendável que cada laboratório estabeleça sua própria faixa de valores de referência

Controle de qualidade

O laboratório deve ter como prática de rotina o uso de soros controle comerciais. Preferencialmente deve participar de

programas de controle externo de qualidade, a exemplo daqueles oferecidos pela SBAC e SBPC.

Características de desempenho do produto

Sensibilidade analítica: A sensibilidade do método é de 1,6 U/L (0,027 $\mu\text{kat/L}$).

Limite de Linearidade: Os resultados são lineares até 1200 U/L (11,5 $\mu\text{kat/L}$). Para valores maiores que 690 U/L, diluir a amostra 1:2 com água destilada e repetir o ensaio. Multiplicar o resultado encontrado pelo fator de diluição dois (2).

Estudos comparativos: Este produto não apresentou variação sistêmica significativa quando comparado com produtos de mesma metodologia.

Repetitividade e Reprodutibilidade:

Repetitividade	Concentração média	n	CV%
	117 U/L	20	1,1
	431 U/L	20	0,7
Reprodutibilidade	Concentração média	n	CV%
	117 U/L	25	4,5
	431 U/L	25	2,2

Termo de garantia

A MBiolog Diagnósticos Ltda garante o desempenho deste produto até a data de expiração indicada no rótulo, desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções de uso forem seguidas corretamente.

Meio ambiente

As caixas e bulas podem ser encaminhados para coleta seletiva e reciclados, desde que não contenha contaminações químicas e/ou biológicas. Preserve o meio ambiente.

Referências

- Xavier, Ricardo M. Laboratório na prática clínica. Porto Alegre. Editora Artmed, 2005.
- Barham D, Trinder P. An improved colour reagent for the determination of blood glucose byoxidase system. Analyst 1972; 27:142-145.

- Fossati P, Prencipe L, Berti G. Use of 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonicacid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum andurine. Clin Chem 1980; 26:227-231.
- Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests, 2nd ed. Saunders Co, 1991.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
- Lima A et al., 1992. Métodos de Laboratório aplicado a clínica. 7° Ed. Editora Guanabara.
- Miller, O e Gonçalves, R., 1995. Laboratório para o Clínico. 8° Ed. Editora ATHENEU
- MBiolog: Arquivos 2010

SAC – SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE

(31) 3507 0707

sac@mbiolog.com.br

REV.: 03 – 03/05/2011

Fabricado por: MBiolog Diagnósticos Ltda

Rua Gama, 337 – Vila Paris – Contagem – MG
CEP: 32.372-120 - CNPJ: 03.590.360/0001 – 89
Resp. Técnico: Fabrício G de Brito CRF-MG 9587
Empresa Certificada: BPFC - ISO 9001
RMS: 80047580144