

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;
- Vitraria.

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-analíticos⁵

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 termostatizado 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:

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

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 µKat/L).

Limite de Linearidade: Os resultados são lineares até 1200 U/L (11,5 µKat/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

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

3. 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.
4. Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests, 2nd ed. Saunders Co, 1991.
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AAC Press, 1995.
6. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AAC Press, 1997.
7. Lima A et al., 1992. Métodos de Laboratório aplicado a clínica. 7° Ed. Editora Guanabara.
8. Miller, O e Gonçalves, R., 1995. Laboratório para o Clínico. 8° Ed. Editora ATHENEU
9. 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