

Fosfatase Alcalina

Kit para determinação da fosfatase alcalina por metodologia cinética colorimétrica.

Ref.: 440

ANVISA 80022230081



blue
by labingá
BIOQUÍMICA CLÍNICA

FINALIDADE

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

MÉTODO

Cinético - colorimétrico IFCC.

ESTABILIDADE

Conservar entre 2 a 8 °C.

Não congelar ou expor o produto a temperaturas elevadas.

Estabilidade em uso: Os reagentes são fornecidos prontos para uso, portanto são estáveis até a data de validade impressa no rótulo. Após abertos, os reagentes 1 e 2 são estáveis por 2 meses, armazenados entre 2 e 8 °C.

Condições de armazenamento após abertura: conservar entre 2 a 8 °C. Após abertos, os reagentes 1 e 2 são estáveis por 2 meses, armazenados entre 2 e 8 °C.

Condições de armazenamento e estabilidade das soluções de trabalho: Estável 5 dias entre 15-25 °C e 30 dias entre 2-8 °C quando não houver contaminação química ou bacteriana..

Sinais de Deterioração dos Reagentes

Presença de partículas, turbidez e absorção do Reagente de Trabalho superior a 1,200 em 405 nm.

PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO

A fosfatase alcalina (FALC ou ALP) catalisa em meio alcalino a hidrólise do p-nitrofenilfosfato liberando p-nitrofenol e fosfato inorgânico.

A atividade catalítica é determinada a partir da velocidade de formação do p-nitrofenol medida em 405 nm.



QUALIFICAÇÕES DO PRODUTO

- Metodologia cinética contínua colorimétrica, simples e rápida para a determinação da fosfatase alcalina facilmente adaptável em analisadores automáticos e semi-automáticos.
- O produto emprega reagentes líquidos, prontos para uso, possibilitando o preparo de um volume de Reagente de Trabalho adequado à rotina dos diversos laboratórios.
- A metodologia permite obter resultados exatos e precisos se for executada conforme descrita nesta Instrução de Uso.

DESCRIÇÃO DO PRODUTO, ACESSÓRIOS E LIMITAÇÕES DE USO

1. **Tampão** - Contém tampão pH 10,4, acetato de magnésio 2,5 mmol/L, sulfato de zinco 1,2 mmol/L, HEDTA 2,5 mmol/L e azida sódica 8 mmol/L.
2. **Substrato** - Contém p-nitrofenilfosfato 60 mmol/L, fenol 50 mmol/L e estabilizador.

Material necessário e não fornecido:

- Espectrofotômetro com cubeta termostatizada (leitura em 405 nm);
- Pipetas e tubos;
- Cronômetro.

COLETA, MANUSEIO, PREPARO E PRESERVAÇÃO DAS AMOSTRAS

A amostra de sangue deve ser obtida após jejum de no mínimo 8 horas.

SORO ou PLASMA (heparina).

A amostra é estável por 7 dias a 4 °C. Quando a amostra é armazenada na temperatura ambiente obtém-se resultados falsamente elevados..

Nota: Recomendamos que a coleta, preparação, armazenamento e descarte das amostras biológicas sejam realizadas seguindo as recomendações das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Enfatizamos que os erros provenientes da amostra podem ser muito maiores do que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

TRATAMENTO OU MANUSEIO ANTES DE ESTAREM PRONTOS PARA USO

Preparo do Reagente de Trabalho

De acordo com o consumo, misturar suavemente os reagentes 1 e 2 na seguinte proporção: 4 volumes de Tampão (1) mais 1 volume de Substrato (2).

Estável 5 dias entre 15-25 °C e 30 dias entre 2-8 °C quando não houver contaminação química ou bacteriana.

CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório clínico deve manter um Programa de Garantia da Qualidade para assegurar que todos os procedimentos laboratoriais sejam realizados de acordo com as Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Para controle e verificação do desempenho do kit usar Soro Controle N e Soro Controle P da Gold Analisa.

É importante que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores médios e os respectivos limites de variação.

PROCEDIMENTO DO TESTE

Instrução de Uso - 07/24

A. Condições de Reação

- Leitura: Comprimento de onda 405 nm
- Temperatura: 37 °C
- Tipo de Reação: Cinética contínua crescente

B. Técnica de Análise sem Calibrador

1. Pipetar na cubeta:

Reagente de trabalho	1000 µL
Amostra	20 µL

2. Homogeneizar e inserir a cubeta no porta-cubetas termostatizado (37 °C). Acionar o cronômetro.

3. Após 1 minuto, fazer a leitura da absorbância inicial (A_0).

4. Fazer novas leituras de absorbância, após exatamente 1, 2 e 3 minutos.

5. As diferenças entre as absorbâncias (ΔA /minuto) devem ser praticamente iguais, indicando a linearidade do método.

6. Calcular o aumento médio de absorbância por minuto (ΔA /min).

Cálculos

Ver Linearidade.

ΔA /min = Variação média da absorbância por minuto.

Considerando que o coeficiente de absorção milimolar do p-nitrofenol em 405 nm é igual a 18,45 tem-se o seguinte fator para calcular a atividade catalítica da fosfatase alcalina:

Fosfatase Alcalina (U/L) = ΔA /min x 2764

Exemplo

Se ΔA /minuto médio = 0,052

Fosfatase Alcalina = 0,052 x 2764 = 144 U/L

Cálculo do Fator

$$\text{Fator} = \frac{Vt \times 1000}{\epsilon \times Va \times d}$$

Vt = Volume total do ensaio = 1,02 mL

Va = Volume de amostra = 0,02 mL

1000 = Conversão de U/mL para U/L

d = espessura da cubeta, via da luz (1 cm)

ϵ = absorbância milimolar do p-nitrofenol em 405 nm = 18,45

$$\text{Fator} = \frac{1,02 \times 1000}{18,45 \times 0,02 \times 1} = 2764$$

C. Técnica de Análise com Calibrador REF. 410 da Gold Analisa

1. Pipetar na cubeta:

Reagente de trabalho	1000 µL
Amostra ou Calibrador	20 µL

2. Homogeneizar e inserir a cubeta no porta-cubetas termostatizado (37 °C). Acionar o cronômetro.

3. Após 1 minuto, fazer a leitura da absorbância inicial (A_0).

4. Fazer novas leituras de absorbância, após exatamente 1, 2 e 3 minutos.

5. As diferenças entre as absorbâncias (ΔA /minuto) devem ser praticamente iguais, indicando a linearidade do método.

6. Calcular o aumento médio de absorbância por minuto do Calibrador e do Teste (ΔA /minuto médio).

Notas

1. Utilizar o Calibrador REF. 410 da Gold Analisa. Ver Instruções de Uso e valor tabelado para fosfatase alcalina.

2. O desempenho do Calibrador pode ser afetado por vários fatores como: erros de reconstituição, de homogeneização, armazenamento incorreto, contaminação da água ou vidraria.

Cálculos

Ver Linearidade.

Como a metodologia obedece a lei de Lambert-Beer, pode-se efetuar os cálculos através do Fator de Calibração (FC).

ΔA /minuto médio = Variação média da absorbância por minuto.

AC = Atividade de Fosfatase Alcalina do Calibrador

AT = Atividade de Fosfatase Alcalina do Teste em U/L

AT = ΔA /minuto do Teste x FC

FC = Fator de Calibração = AC ÷ ΔA /minuto médio do Calibrador

Exemplo

Se ΔA /minuto médio do Calibrador = 0,158

Se ΔA /minuto médio do Teste = 0,052

Se AC = 432 U/L (Valor indicado na tabela do Calibrador)

FC = AC ÷ ΔA /minuto médio do Calibrador = 432 ÷ 0,158 = 2734

AT em U/L = 0,052 x FC = 0,052 x 2734 = 142 U/L

Atenção

Fosfatase Alcalina

Kit para determinação da fosfatase alcalina por metodologia cinética colorimétrica.

Ref.: 440

ANVISA 80022230081



blue
by labingá
BIOQUÍMICA CLÍNICA

- As técnicas apresentadas são adequadas para fotômetros cujo volume mínimo de solução para leitura é igual ou menor que 1000 µL.
- O analista sempre deve fazer uma verificação da necessidade de ajuste do volume para o fotômetro empregado no seu laboratório.
- Os volumes de amostra e de reagente podem ser modificados proporcionalmente, sem alterar o desempenho do teste e os cálculos.
- Em caso de redução dos volumes é necessário observar o volume mínimo de leitura fotométrica.
- Volumes da amostra menores do que 10 µL são críticos em aplicações manuais e devem ser usados com cautela porque aumentam a imprecisão da medição.

EFEITO DA TEMPERATURA

Através da Tabela apresentada abaixo, pode-se converter valores de atividade obtidos em uma temperatura para valores em outras temperaturas.

Temperatura de medida	Fatores de conversão para outras temperaturas		
	25 °C	30 °C	37 °C
25 °C	-----	1,45	2,08
30 °C	0,69	-----	1,43
37 °C	0,48	0,70	-----

AUTOMAÇÃO

Este kit pode ser utilizado na maioria dos analisadores automáticos. O consumidor poderá solicitar mais informações através do Setor de Apoio ao Cliente (SAC) ou acessando o site www.goldanalisa.com.br.

INTERFERENTES OU LIMITAÇÕES DO TESTE

A bilirrubina até 32 mg/dL e hemólise (hemoglobina até 30 mg/dL) não interferem na reação de dosagem.

Hemólises mais acentuadas produzem resultados falsamente diminuídos.

Valores de triglicérides acima de 1800 mg/dL produzem resultados falsamente elevados.

Glicose e glicerol aumentam a atividade da enzima, atuando como aceptores de fosfatos.

Citrato, oxalato, EDTA e fluoreto inibem a atividade da fosfatase alcalina por formarem complexos com o magnésio, que é um importante ativador da enzima.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Linearidade

A reação é linear até 1500 U/L. Para valores maiores, diluir a amostra com solução de NaCl 150 mmol/L (0,85%) e realizar uma nova determinação. Multiplicar o valor obtido pelo fator de diluição empregado.

Repetitividade

A imprecisão intra-ensaio foi calculada com 10 determinações sucessivas de fosfatase alcalina, utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes.

As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 1,0 e 0,7%.

Reprodutibilidade

A imprecisão inter-ensaio foi calculada com 10 determinações de fosfatase alcalina em dias diferentes, utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes.

As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 3,4 e 1,1%.

Efeitos da diluição da matriz

Uma amostra com valor igual a 1413 U/L foi utilizada para avaliar a resposta do sistema nas diluições da matriz com NaCl 150 mmol/L. Usando fatores de diluição que variaram de 2 a 8 foi encontrada recuperação média de 103%.

Sensibilidade metodológica

Limite de detecção: 2,8 U/L. Equivale a 3 desvios padrão (DP) obtidos a partir de 20 medições de uma amostra com concentração de fosfatase alcalina igual a 44 U/L.

RISCOS RESIDUAIS IDENTIFICADOS

A gestão de riscos do produto é conduzida de maneira preventiva conforme estabelecido pela ISO 14971, garantindo que as ações implementadas sejam suficientemente eficazes para mitigar os riscos residuais. Todos os riscos identificados são tratados, eliminados e/ou controlados de forma rigorosa.

INTERVALO DE REFERÊNCIA

Adultos: 27 a 100 U/L.

Crianças e adolescentes até 16 anos: 75 a 390 U/L.

Estes valores devem ser usados como uma orientação. É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

DESCARTE DO PRODUTO, ACESSÓRIOS E CONSUMÍVEIS

- O reagente Tampão (1) contém azida de sódio que pode reagir com cobre e chumbo dos encanamentos formando sais explosivos.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.

INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

Nº do lote e data de validade: Vide Rótulos do Produto

Fabricante legal: Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0004-69

AFE Nº 8283957.

Endereço: Rua Carmelita Toledo, 240 - Eymard - CEP: 31.910-570 - Belo Horizonte - MG.

Regularizado por: Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16

AFE Nº 800222-3

Farm. Resp. Isabela Fernandes dos Santos - CRF-MG 16773

Home page: www.goldanalisa.com.br

E-mail: assessoria@goldanalisa.com.br

Setor de Apoio ao Cliente (SAC): 0800 703 1888

Caso tenha interesse em obter, sem custo adicional, esta instrução de uso em formato impresso, basta realizar a solicitação através do e-mail assessoria@goldanalisa.com.br ou pelo telefone/whatsapp (31) 9577-2511.

Observe a correlação da versão da instrução de uso indicada no rótulo do produto adquirido.

Analisa é marca registrada da Gold Analisa Diagnóstica Ltda.

ASSESSORIA CIENTÍFICA

Telefone/WhatsApp (44) 3031-4020 / 44 99111-2726

Email: andre@labinga.com.br

Site: www.labinga.com.br/blue