



INSTRUÇÕES DE USO (Versão Mai/25)

FOSFATASE ALCALINA

Método Cinético

FINALIDADE

O conjunto é um sistema que se destina à determinação da fosfatase alcalina no soro ou plasma sanguíneos. Exclusivo para diagnóstico "in vitro".

PRINCÍPIO DE AÇÃO

A determinação da fosfatase alcalina através de método cinético com o emprego do p-nitrofenilfosfato de sódio constitui-se em método de escolha, sendo inclusive recomendado pela Federação Internacional de Química Clínica (IFCC) e a Associação de Química Clínica da Alemanha (DGKC). No presente método, baseado na DGKC, o p-nitrofenilfosfato de sódio é hidrolisado especificamente pela fosfatase alcalina do soro em pH 9,80, liberando o p-nitrofenol, cuja velocidade de formação em 405 nm é proporcional à atividade da enzima presente.

SIGNIFICADO CLÍNICO

No soro, a fosfatase alcalina é constituída por quatro genótipos estruturais: o tipo fígado-ossos-rins, o tipo intestinal, o tipo placentário e a variante das células germinais. Ocorrem nos osteoblastos, hepatócitos, rins, baço, placenta, próstata, leucócitos e intestino delgado. O tipo fígado-ossos-rins é particularmente importante. Observa-se um aumento da atividade da fosfatase alcalina em todas as formas de colestase, sobretudo na icterícia obstrutiva. Apresentam também valores elevados nas doenças do sistema esquelético, como Doença de Paget, hiperparatiroidismo, raquitismo e osteomalacia, bem como em casos de fraturas e tumores malignos. Por vezes, observa-se um aumento considerável da atividade da fosfatase alcalina em crianças e jovens, causada por um aumento da atividade osteoblástica após um crescimento ósseo acelerado..

REAGENTES

- Tampão:** Solução tamponada em pH 9,80, contendo cloreto de magnésio 0,5 mmol/L e azida sódica 15,5 mmol/L. Conservar entre 2-8°C.
- Substrato:** Solução aquosa 10x concentrada, contendo p-nitrofenilfosfato de sódio 100 mmol/L e azida sódica 15,5 mmol/L. Conservar entre 2-8°C.

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

Pipetas manuais ou automáticas
Água destilada ou deionizada

CUIDADOS NO ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DOS REAGENTES

- Antes de serem abertos, os reagentes podem ser transportados em temperatura na faixa de 15-25°C, até um limite de 48 horas.
- As datas de fabricação e validade aparecem no rótulo da embalagem.
- Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.
- Todos os reagentes devem ser mantidos sob refrigeração, na faixa de 2-8°C. Não congelar.
- Mantê-los ao abrigo da luz. Os reagentes devem permanecer fora do refrigerador apenas o tempo necessário para as dosagens.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- Somente para uso diagnóstico "in vitro".
- Evitar contaminação com íons metálicos ou agentes oxidantes.
- O espectrofotômetro ou mesmo equipamentos automatizados devem ficar livres de contaminação microbiana, ser calibrados corretamente e receber manutenção de acordo com as instruções do fabricante.
- Não misturar ou trocar diferentes lotes de reagentes.
- Evitar contaminação microbiana dos reagentes e não utilizar reagentes que tenham sinais de contaminação ou precipitação.
- Usar pipetas de vidro e ponteiros descartáveis separadas para cada amostra, controle (se utilizado) e reagente e não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada, o que poderia causar resultados errôneos.
- Não dispensar os reagentes em tubulação contendo ferro galvanizado.
- Os reagentes 1 e 2 contêm azida sódica, irritante para pele e mucosas.
- Caso haja contato com esses reagentes, lavar imediatamente a área afetada com água em profusão. Em caso de ingestão acidental, procurar auxílio médico imediato.
- Não comer, beber, fumar, armazenar ou preparar alimentos, ou aplicar cosméticos dentro da área de trabalho onde reagentes e amostras estiverem sendo manuseados.
- Usar luvas descartáveis quando manusear amostras clínicas ou reagentes. Lavar sempre as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.
- As amostras devem ser descartadas, após o uso, em recipientes específicos.
- Não dispensar em coletores de lixo comuns ou nas redes de água e esgotos.
- Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante.

AMOSTRA

Soro ou Plasma (Somente Heparina–Vide Interferentes)

A determinação da atividade da fosfatase alcalina deve ser feita de preferência no mesmo dia da coleta, uma vez que as estabilidades das várias isoenzimas diferem. Assim por exemplo, a atividade da isoenzima óssea desaparece rapidamente do soro enquanto que a da isoenzima placentária permanece por vários dias. As isoenzimas de origem hepática ou intestinal permanecem ativas no mínimo por dois dias se mantidas sob refrigeração.

PROCEDIMENTO (PARA ANALISADORES MANUAL OU SEMIAUTOMATIZADOS)

Preparo do Reagente de Trabalho:

Adicionar 5 ml do conteúdo do frasco de **Substrato (2)** ao frasco de **Tampão (1)** e homogeneizar bem. Este reagente é estável 30 dias, se mantido fora da geladeira apenas o tempo necessário para as dosagens. Em condições de armazenamento por períodos prolongados na temperatura ambiente (15-25°C) e na presença de luz, o reagente pode mostrar sinais de deterioração após 05 dias.

Nota: Podem ser preparadas quantidades menores de Reagente de Trabalho, sempre observando a proporção de 0,1 mL de Substrato para 0,9 mL de Tampão.

Dosagem (Soro ou Plasma heparinizado):

Condições para os testes	
Temperatura de trabalho	37°C ± 0,5 °C.
Comprimento de onda	405 nm.

- Pré-aquecer o Reagente de Trabalho durante 2 minutos a 37°C.
- Acertar o zero do aparelho com água destilada.
- Pipetar em um tubo de ensaio:

Volume	
Reagente de Trabalho	1,0 mL
Amostras	0,02 mL

- Homogeneizar e transferir para uma cubeta termostatizada a 37°C. Acionar o cronômetro.
- Após 60 segundos, anotar a absorbância inicial A_0 e efetuar novas leituras após 1, 2, 3 minutos (A_1 , A_2 e A_3 respectivamente). A média das diferenças entre as leituras, ΔA média, será usada nos cálculos abaixo.

CÁLCULOS

Fosfatase alcalina (U/L) = ΔA média x 2700

Exemplo:

Abs. inicial = 0,400; A_1 = 0,494; A_2 = 0,586; A_3 = 0,679

ΔA_1 = 0,094; ΔA_2 = 0,092; ΔA_3 = 0,093. **ΔA média = 0,093**

Fosfatase alcalina (U/L) = 0,093 x 2700 = 251

VALORES DE REFERÊNCIA

	25°C	30°C	37°C
Crianças até 15 anos	50- 400 U/L	60- 490 U/L	80- 600 U/L
Adultos	50- 190 U/L	60- 230 U/L	80- 300 U/L

LINEARIDADE

A reação é linear entre 15 e 1200 U/L. Para valores acima de 1200 U/L, diluir a amostra com solução de NaCl 0,85% e repetir a dosagem. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

DADOS ESTATÍSTICOS DE DESEMPENHO DO TESTE

Sensibilidade: 99%.

Exatidão: A comparação com método similar validado (que também utiliza a metodologia cinética com p-nitrofenilfosfato de sódio) demonstrou um coeficiente de correlação, r, igual a 0,99 a partir da análise de amostras aleatórias oriundas de pacientes de ambulatório. A equação de regressão obtida foi : $y = 1,0191x + 5,5904$, que demonstra uma exatidão de 99%.

Sensibilidade analítica: O método apresenta uma variação de absorvância em 405 nm igual a 0,00037 em cada acréscimo de 1 U/L na concentração de Fosfatase alcalina. O limite de detecção do método é igual a 15 U/L.

Precisão da medição:

Repetibilidade: A realização de 20 determinações de uma mesma amostra com valor dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados:

Repetibilidade	Amostra
Média	81
Desvio Padrão	3,8
Coefficiente de Variação (%)	4,8

Reprodutibilidade: A realização de 20 determinações de uma mesma amostra, realizada por um operador diferente, utilizando o mesmo equipamento de medição, com valores dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados:

Reprodutibilidade	Amostra
Média	75
Desvio Padrão	2,8
Coefficiente de Variação (%)	3,7

AUTOMAÇÃO

Aplicações para analisadores automáticos estão disponíveis mediante solicitação à Assessoria Científica.

CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório deve ter como prática de rotina o uso de soros controle comerciais. Preferivelmente deve participar de programas de controle externo de qualidade, a exemplo daqueles oferecidos pela SBAC e SBPC.

INTERFERENTES

Resultados falsamente diminuídos: Hemoglobina acima de 50 mg/dL (hemólise moderada)

Resultados falsamente elevados: Bebidas alcoólicas, analgésicos, anticoncepcionais, Triglicérides elevado.

Citrato, fluoreto, oxalato e EDTA são inibidores da atividade da fosfatase alcalina por que formam complexo com o magnésio, logo interferem na sua dosagem.

Bilirrubina até 20 mg/dL e ácido ascórbico mesmo em concentrações elevadas (acima de 20 mg/dL) não interfere.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bergmeyer, H.U (Ed.) Methods of Enzymatic Analysis, Academic Press, p.75-86, 1985.
- Bretaudiere, J.P., Vassault, A., Amsellem, L. et al. Clin. Chem. 23:2263, 1977
- Rej, R. Clin. Chem. 23 : 1903, 1977.
- Tietz, N.W., Burtis, C., Ervin, K., et al. Clin. Chem. 26 : 1023, 1980.
- Katal: Dados de arquivo

APRESENTAÇÃO

Composição	Volume
1.Tampão	1 x 60 mL
2.Substrato	1 x 10 mL

CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

O desempenho deste sistema diagnóstico, medido pelas propriedades descritas nesta Instrução de Uso, está garantido até a sua data de vencimento, desde que obedecidas as seguintes condições:

- A adesão estrita, pelo usuário, ao quadro de procedimento técnico.
- As condições de armazenamento estarem de acordo com o recomendado nesta Instrução de Uso.
- Os materiais necessários e não fornecidos com o produto, estarem em boas condições de uso.

ASSESSORIA CIENTÍFICA

Para esclarecimentos de dúvidas e Assessoria Científica ligue:

(31) 3157-3688 ou (11) 99217-8407

e-mail: sac@kallab.com.br



Katal Biotecnológica Ind. Com. Ltda.

Rua: Leiria, 1.160 - CEP 31255-100.

Belo Horizonte - MG – Brasil – CNPJ: 71.437.917/0001-04

Responsável Técnica: Raquel Miranda Gonzaga – CRBio 076936/04-D

Anvisa:10377390291

Data da última revisão: 07/05/2025

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA PRODUTOS DIAGNÓSTICOS "IN VITRO"	
	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
	Código do Produto
	Produto para Diagnóstico "In Vitro"
	Liofilizado
	Corrosivo
	Risco Biológico
	Tóxico
	Reagente
	Fabricado por
	Número de Lote