

## Utilização prevista

Para a determinação quantitativa de fosfatase alcalina no soro humano utilizando os analisadores Yumizen C230 e Yumizen C240. Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*. **Rx Only.**

## Relevância clínica

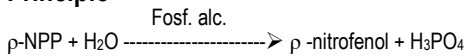
As estimativas de fosfatase alcalina são de interesse no diagnóstico de dois grupos de doenças: doença hepatobiliar e doença óssea associada ao aumento da atividade osteoblástica.<sup>1</sup>

## Resumo do teste

A fosfatase alcalina no soro é determinada através da medição da taxa de hidrólise de diversos ésteres de fosfato em condições especificadas. O fosfato de p-nitrofenil é um desses ésteres de fosfato e foi introduzido como substrato por Fujita em 1939.<sup>2</sup>

Bessey, Lowry e Brock publicaram um procedimento de endpoint em 1946<sup>3</sup>, enquanto Bowers e McComb apresentaram um procedimento cinético em 1966.<sup>4</sup> O procedimento cinético sofreu várias modificações e foi recomendado para análises de rotina.<sup>5,6</sup> Este reagente líquido baseia-se no método recomendado de AACC.<sup>7</sup>

## Princípio



O fosfato de p-nitrofenil é hidrolisado em p-nitrofenol e fosfato inorgânico. A taxa à qual o p-NPP é hidrolisado, medida a 405 nm, é diretamente proporcional à atividade de fosfatase alcalina.

## Composição do reagente

Depois de combinar R1 e R2 conforme indicado, o reagente contém: tampão de AMP (pH 10,45), p-NPP ≤16 mM, íões de magnésio ≥1,0 mM, ativadores e conservantes.

## Preparação dos reagentes

Os reagentes estão prontos a utilizar.

## Armazenamento e estabilidade dos reagentes

Armazene o conjunto de reagentes a 2-8°C. Os reagentes mantêm-se estáveis até à data de validade, quando armazenados conforme as instruções. Proteja da luz direta e evite a contaminação microbiana. **NOTA:** O reagente R2 é sensível à temperatura e pode ser afetado pela exposição prolongada à temperatura ambiente. Coloque novamente o reagente a 2-8°C o mais rapidamente possível após a utilização.

## Precauções

1. Este conjunto de reagentes destina-se apenas a diagnóstico *in vitro*.
2. Não ingira qualquer material, a toxicidade não foi determinada.
3. Não utilize se a absorvância inicial do reagente de trabalho for superior a 1,0 a 405 nm ou se o reagente não cumprir os parâmetros de desempenho indicados.
4. O reagente não deve ser utilizado se não recuperar os valores indicados nos soros de controlo ou se apresentar sinais de contaminação microbiana.
5. Todas as amostras e controlos devem ser manuseados de acordo com as boas práticas laboratoriais, utilizando as precauções adequadas conforme descrito no Manual da CDC/NIH, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 2.<sup>a</sup> Ed., 1988, N.º de publicação do HHS (CDC) 88-8395.

## Colheita e armazenamento de amostras

1. Utilize soro não hemolisado (não deve ser utilizado plasma, dado que os agentes anticoagulantes inibem a atividade da fosfatase alcalina).<sup>8,9</sup>
2. As amostras de soro devem ser armazenadas a 2-8°C e analisadas num prazo de dois dias.<sup>10</sup>
3. A colheita de amostras deve ser realizada de acordo com o documento NCCLS M29-T2.<sup>11</sup> Nenhum método pode oferecer garantias absolutas de que as amostras de sangue humano não transmitirão infeções. Por conseguinte, todas as amostras de sangue devem ser consideradas potencialmente infecciosas.

## Interferências

1. Young, et al<sup>8</sup> disponibilizam uma lista de medicamentos e outras substâncias que interferem na determinação da atividade da ALP.

2. O método não é influenciado (< 10%) por valores de hemoglobina de até 500 mg/dL, níveis de bilirrubina de até 20 mg/dL e lipemia/triglicéridos (foi utilizado Intralipid para fins de simulação) até 1000 mg/dL. Os estudos foram realizados no analisador Hitachi 717™ na sequência de uma modificação das diretrizes constantes do documento NCCLS EP7-P.<sup>12</sup>

## Materiais fornecidos

Reagente R1 de fosfatase alcalina  
 Reagente R2 de fosfatase alcalina

## Materiais necessários, mas não fornecidos

1. Analisador Yumizen C230/Yumizen C240
2. Manual de utilização do Yumizen C230/Yumizen C240
3. Controlo de química, número de catálogo C7592-100

## Parâmetros de teste

Teste:	FOS. ALC	Química: Fosfatase alc.
N.º de química:	201	Nome em letra de imprensa: Fosf. alc.
Tipo de reação:	Cinética	Direção de reação: Positiva
Onda pri.:	405 nm	Onda sec: 670 nm
Decimal.:	0	Tipo de amostra: Soro
Tempo de branco:		Tempo de reação: 3 11
Unidade:	U/L	Tempo de incubação: 3

	Vol. de amostra	Aspirado	Diluído	Vol. de reagente	Diluído
Padrão;	4,5 uL	uL	uL	R1: 180 uL	uL
Diminuído;	uL	uL	uL	R2: 45 uL	uL
Aumentado;	uL	uL	uL		uL

Intervalo de linearidade (padrão); 0-1000	Limite de linearidade: 0.3
Intervalo de linearidade (diminuído):	Redução de substrato: 25000
Intervalo de linearidade (aumentado):	Abs. de branco misturado: - 40000 40000
Abs. de branco R1: - 40000 40000	Estabilidade no equipamento: 30 Dia(s)
Resposta de branco - 40000 40000	Limite de alarme do reagente: 5
Química dupla:	

Verificação prozona:		
Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Utilizar resultado qualitativo:	
Intervalo:	Referência:

Desvio de declive:			
Declive	Desvio	Unidade	
1	0	U/L	

Pré-tratamento:	
Vol. de amostra pré-tratada:	Vol. de reagente pré-tratado:
uL	uL

Intervalo de ref.:	
Tipo de amostra: Sexo: Intervalo de idades: Intervalo de ref.: Intervalo crítico: Unidade:	

## Parâmetros de configuração da calibração

Quím:	Fosf. alc.			
Definição da calibração				
Modelo matemático:	Fator K			
Fator:	2276000	Réplicas: 2		
Limites de aceitação				
Tempo cal:	24 h			
Dif declive:	DP:			
Sensibilidade:	Repetibilidade:			
Deter coef:				
Calib. auto.				
	<input type="checkbox"/> Tempo cal			

Calibrador	Conc.	Pos	N.º do lote
Água	0.0	W	

\* Definida pelo utilizador

# Conjunto de Reagentes de Fosfatase Alcalina Pointe

## Limitações

- Esta metodologia mede a fosfatase alcalina total, independentemente do tecido ou órgão de origem. Podem ser necessários outros testes para auxiliar no diagnóstico diferencial.
- As amostras com valores superiores a 1000 IU/L devem ser diluídas com um volume igual de solução salina e novamente submetidas a ensaio multiplicando os resultados por dois.

## Calibração

O procedimento é padronizado através da capacidade de absorção milimolar do  $\rho$ -nitrofenol (18,75 a 405 nm) nas condições especificadas. Os resultados baseiam-se na alteração da absorvância por unidade de tempo; todos os parâmetros devem ser conhecidos e controlados.

## Cálculos (exemplo)

Uma Unidade internacional (IU/L) é definida como a quantidade de enzima que catalisa a transformação de um micromole de substrato por minuto em condições especificadas.

$$(IU/L) = \frac{\Delta Abs./Min. \times 1000 \times 1,025}{18,75 \times 1 \times 0,025} = \Delta Abs./min. \times 2187$$

Em que  $\Delta Abs./Min.$  = Alteração média na absorvância por minuto  
1000 = Conversão de IU/mL em IU/L  
1,025 = Volume de reação total (mL)  
18,75 = Capacidade de absorção milimolar de  $\rho$ -nitrofenol  
.025 = Volume de amostra (mL)  
1 = Trajetória da luz em cm

Exemplo: Se a sua  $\Delta Abs./min.$  = 0,06  
Então,  $0,06 \times 2187 = 131$  IU/L

NOTA: Se os parâmetros de teste forem alterados, o fator tem de ser recalculado utilizando a fórmula acima indicada.  
Unidades do SI: Para converter em unidades do SI (nkat/L), multiplique a IU/L por 16,67.

## Controlo da qualidade

A validade da reação deve ser monitorizada por meio de soros de controlo com atividades de ALP normais e anormais conhecidas e deve ser executada em cada turno de trabalho em que sejam efetuados ensaios de ALP. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça a sua própria frequência de determinação de controlo. Os requisitos de controlo de qualidade devem ser executados em conformidade com os requisitos de acreditação e regulamentação local, estatal e/ou federal.

## Valores esperados

Adultos: 35-123 IU/L a 37°C. Este intervalo de referência baseia-se num estudo realizado pelo fabricante utilizando amostras de 783 adultos aparentemente saudáveis. As crianças têm um valor normal mais elevado. Sugere-se vivamente que cada laboratório estabeleça o seu próprio intervalo de valores normais.

**Características de desempenho específicas** Dados gerados sobre os analisadores da série Yumizen 200.

**Intervalo do ensaio:** 0-1000 IU/L

**Exatidão:** Estudos que compararam o método de reagente líquido de fosfatase alcalina utilizado nos analisadores da série Yumizen 200 e num analisador semelhante produziram os seguintes resultados:

Método	Fosfatase alcalina
N	59
Fosfatase alcalina média IU/L	198
Intervalo IU/L	0-927
Desvio padrão IU/L	251
Análise de regressão	$Y=1,077x - 8,9$
Coefficiente de correlação	0,993

## Precisão:

A precisão no mesmo dia do reagente de colesterol líquido de fosfatase alcalina foi determinada na sequência de uma modificação do documento

EP5-T2 do NCCLS<sup>17</sup> utilizando os analisadores da série Yumizen 200. Os estudos de precisão no mesmo dia produziram os seguintes resultados:

Amostra	LOW	HIGH
N	20	20
Fosfatase alcalina média IU/L	61	171
Desvio padrão IU/L	2,5	2,6
Coefficiente de variação (%)	4,1	1,5

A precisão entre dias também foi determinada na sequência de uma modificação do documento NCCLS EP5-T2.<sup>17</sup> Os estudos de precisão entre dias realizados nos analisadores da série Yumizen 200 produziram os seguintes resultados:

Amostra	LOW	HIGH
N	80	80
Fosfatase alcalina média IU/L	81	204
Desvio padrão IU/L	2,6	4,1
Coefficiente de variação (%)	3,3	2,0

**Sensibilidade:** Limite de deteção de 2 DP (95% de Conf) = 0,828 IU/L

## Bibliografia

- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders co., p 603 (1982).
- Fujita, H., J. Biochem. (Japan) 30:69 (1969).
- Bessey, O.A., Lowry, O.H., Brock, M.J., J. Biol. Chem. 164:321 (1964).
- Bowers, G.N., Jr., McComb, R.B., Clin. Chem. 12:70 (1966).
- The Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology, Scand. J. Clin. Lab. Invest 32:291 (1974).
- Wilkinson, J.H., et al, Clin. Chem. 15:487 (1969).
- Tietz, N.W., et al, Clin. Chem. 29:751 (1983).
- Young, D.S., et al, Clin. Chem. 21:1D (1975).
- Demetriou, J.A., Drewes, P.A., Gin, J.B., Clinical Chemistry: Principles and Technics, 2ª Ed., Hagerstown (MD), Harper & Row, p. 927 (1974).
- Rej., R., Clin. Chem. 23:1903 (1977).
- NCCLS document "Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue", 2ª Ed. (1991).
- NCCLS document "Interference testing in Clinical Chemistry", 2ª Ed. (1992).
- NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2ª Ed. (1992).

## Legenda dos símbolos

Utilizar até (AAAA-MM-DD)	Lote e código
Número de catálogo	Fabricante
Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	Limite de temperatura
Consulte as instruções de utilização	<b>Rx Only:</b> Utilização apenas mediante receita médica
Marcação CE	Representante autorizado na Comunidade Europeia

12-A7516-100

Fabricado por  
HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand  
5449 Research Drive Canton, MI 48188



Fabricado por HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand  
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Representante Europeu Autorizado:  
Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53  
1030 Brussels, BÉLGICA

Tel.: (32)2.732.59.54 Fax: (32)2.732.60.03 e-mail: mail@obelis.net



## Certificada para executar reagentes

Os reagentes Pointe são certificados para serem fabricados de acordo com parâmetros especificados. Qualquer produto de reagente Pointe que não cumpra as especificações até à data de validade indicada será regularizado imediatamente sem quaisquer custos.