

REF 10214-4 4 x 20 mL / 4 mL

FOSFATASE ALCALINA (ALP)

Os frascos em forma de cunha contêm volumes úteis de 20 mL do reagente R1 e 4 mL do reagente R2.

INDICAÇÃO DE USO

O reagente para ALP EasyRA é destinado à determinação quantitativa de fosfatase alcalina no soro e plasma humanos (com heparina de lítio como anticoagulante), usando o Analisador Químico Clínico EasyRA® MEDICA. A medição de fosfatase alcalina ou de suas isoenzimas é usada no diagnóstico e tratamento de doenças do fígado, ossos, paratireóides e intestino.

Para uso somente em diagnósticos *in vitro*. Somente para uso profissional.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

A fosfatase alcalina faz parte de um grupo de fosfatases com pH ótimo de aproximadamente 10. As fosfatases alcalinas são encontradas por todos os tecidos do corpo.¹ A maioria das enzimas ALP em um adulto normal encontram-se no fígado ou no trato biliar.² Os níveis normais de ALP variam com a idade e são mais elevados em crianças e adolescentes que apresentam períodos ativos de crescimento ósseo. Os adultos do sexo masculino apresentam valores mais altos do que o sexo feminino, exceto no caso de gestantes, que apresentam níveis elevados devido à secreção placentária de ALP.

Valores elevados de ALP ocorrem em caso de distúrbios hepatobiliares³ como hepatite, cirrose e malignidade, e em doenças ósseas de adultos associadas a atividade osteoblástica aumentada, incluindo carcinoma metastático, raquitismo, doença de Paget e osteomalácia.³ Valores altos de ALP sérica também são observados na doença de Hodgkin's, insuficiência cardíaca congestiva, colite ulcerativa, enterite regional e infecções intestinais bacterianas.⁴

PRINCÍPIO DO PROCEDIMENTO

Este teste mede a atividade da ALP sérica por método cinético semelhante ao de Bowers e McComb.⁵ A ALP hidrolisa o substrato 4-nitrofenilfosfato para formar 4-nitrofenol e fosfatos.



O componente 4-nitrofenol tem cor amarela em pH 10,4, com pico de absorbância em 405 nm. A taxa de formação do 4-nitrofenol é diretamente proporcional à atividade da fosfatase alcalina na amostra.

REAGENTES

Reagente Tampão para ALP (R1):

2-amino-2-metil-1-propanol,	
pH 10,4	0,35 mol/L
Cloreto de magnésio	2,0 mmol/L
Sulfato de zinco	1,0 mmol/L
HEDTA	2,0 mmol/L

Reagente Substrato de ALP (R2):

4-nitrofenilfosfato	16 mmol/L
---------------------	-----------

PRECAUÇÕES

1. As boas práticas de segurança em laboratórios devem ser seguidas para o manuseio de qualquer reagente. (CLSI, GP17-A2).
2. Os reagentes contêm menos de 0,1% de azida de sódio, que pode reagir com tubulações de chumbo e cobre e formar azidas metálicas altamente explosivas. Consulte a Ficha de Informações de Segurança de Produto Químico para obter informações sobre riscos e medidas de segurança.
3. Como para qualquer procedimento de teste diagnóstico, os resultados devem ser interpretados considerando-se os resultados de outros testes e o estado clínico do paciente.
4. Não utilize cubetas lavadas.

INSTRUÇÕES DE MANUSEIO, ARMAZENAGEM E ESTABILIDADE DO REAGENTE

O reagente é fornecido pronto para o uso. O reagente permanecerá estável em frasco fechado até a data de validade informada no rótulo desde que armazenado a 2-8 °C. Destampe o reagente somente durante a realização de um teste. Mantenha o reagente firmemente fechado quando não estiver sendo utilizado. Quando usado dessa forma, o reagente permanece estável a bordo da área refrigerada para reagentes do Analisador Químico Easy RA Medica pelo número de dias programado no chip RFID encontrado no frasco. Se o analisador não oferecer a opção de refrigeração, a tampa deverá ser recolocada após o uso, e os reagentes deverão ser armazenados a 2-8 °C. Não utilize o reagente se estiver turvo ou opaco ou se os valores conhecidos para controle de soro não forem obtidos.

COLETA E ARMAZENAGEM/ESTABILIDADE DA AMOSTRA

Soro não hemolisado e límpido deve ser utilizado. O calibrador reconstituído permanece estável por 7 dias a 2 – 8 °C. Entretanto, a atividade da enzima aumenta levemente durante a armazenagem. Observa-se também um aumento na atividade da ALP em alguns soros de controle reconstituídos, armazenados tanto em temperatura ambiente como no refrigerador.⁶

PROCEDIMENTO

MATERIAIS FORNECIDOS

Frasco de Reagente para ALP Medica, REF 10214

Materiais adicionais necessários

Controle de Qualidade EasyCQ® Medica – Nível A para química/eletrolitos, REF 10793

Controle de Qualidade EasyCQ Medica – Nível B para química/eletrolitos, REF 10794

Frasco de corante Medica para teste de precisão, REF 10764

Frasco de Solução de Limpeza Medica – Química e ISE, REF 10660 ou

Frasco de Solução de Limpeza Medica – Química, REF 10661

Instruções de uso

O reagente é fornecido pronto para o uso. Remova a tampa e coloque o reagente na bandeja do Analisador EasyRA, localizada na área reservada para reagentes. A estabilidade a bordo (8 dias no máximo) encontra-se programada no chip RFID do frasco do reagente.

Obs.: Após remover a tampa e colocar o frasco no Analisador EasyRA, verifique se há espuma no interior dos gargalos do frasco. Se houver espuma, remova com um swab ou com uma pipeta descartável antes de executar o teste. Utilize swabs ou pipetas descartáveis separadas para R1 e R2.

Calibração

Não aplicável.

Controle de qualidade

Recomenda-se a execução de dois níveis (normal e anormal) de controle baseado em soro humano (junto com a análise, sempre que forem executados testes com pacientes) e a cada troca de lote de reagente. A não obtenção de valores dentro do intervalo adequado a partir da análise do material de controle pode indicar deterioração do reagente, mau funcionamento do instrumento ou erros de procedimento. O laboratório deve seguir as diretrizes municipais, estaduais e federais de controle de qualidade ao usar materiais de controle de qualidade.

Resultados

Após a finalização da análise, o Analisador EasyRA calcula a concentração de ALP a partir da alteração de absorbância por minuto, volume da amostra, volume total de reação, comprimento de trajetória (cm) de 0,6 e absorvidade molar de 18,75.

$$\text{ALP (U/L)} = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{Vol. Total}(\mu\text{l}) \times 1000)}{(\text{Absorvidade molar} \times \text{Comp. trajetória}(\text{cm}) \times \text{Vol. da amostra}(\mu\text{l}))}$$

Valores esperados¹

O intervalo de referência para ALP em soro é o seguinte:

Adultos: 34 –114 U/L (37 °C)

Estes valores são orientativos. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de valores esperados, considerando-se as diferenças entre os instrumentos, as instalações laboratoriais e as populações locais.

Limitações do procedimento (ex: amostra ultrapassa o intervalo do exame)

O teste de ALP é linear até 800 U/L.

Se a Alteração de Absorbância por Minuto ($\Delta A/\text{Min}$) for maior do que 0,1875, o que corresponde a aproximadamente 800 U/L, será sinalizada como “SD” (esgotamento de substrato) pelo analisador. As alterações de absorbância por minuto que ultrapassem este valor estarão acima do intervalo linear do teste. Se o ícone de novo teste for selecionado pelo operador, a amostra poderá ser testada novamente usando metade (1/2) do volume da amostra. Os resultados do novo teste são calculados para refletir o uso de um volume menor da amostra. Isso estenderá o intervalo reportável do teste de ALP até 1600 U/L.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO⁷

Intervalo reportável

O intervalo reportável vai de 10 a 800 U/L. O intervalo estendido vai de 10 a 1600 U/L quando metade da amostra é usada (diluição 1:1).

Inexatidão/Correlação (CLSI, EP9-A2)

A tabela a seguir lista os dados obtidos em uma comparação do desempenho do Reagente para ALP Medica (y) no Analisador EasyRA utilizando um comprimento de onda primário de 405 nm apenas com o desempenho do mesmo reagente para ALP (x) no Analisador EasyRA utilizando um comprimento de onda primário de 405 nm e um comprimento de onda secundário de 700nm. Os dados mostrados abaixo representam determinações avulsas utilizando um comprimento de onda primário e um comprimento de onda secundário no Analisador EasyRA em comparação com a média entre dois valores replicados obtidos utilizando um comprimento de onda primário no Analisador EasyRA.

Número de amostras	47	Intervalo de amostras	17 – 744 U/L
Declive	0,9938	Intercepta y	3,6906
Coefficiente de correlação	0,9998	Equação de regressão:	$Y = 0,9938 * X + 3,6906$

A tabela a seguir lista os dados obtidos em uma comparação de amostras de soro (x) e plasma li-heparinizado (y) correspondentes usando o Reagente Medica para fosfatase alcalina no Analisador EasyRA. Os dados abaixo representam uma única determinação de plasma em comparação com a média de dois valores de soro replicados.

Número de amostras	74	Intervalo de amostras	13 – 764 U/L
Declive	1,0284	Intercepta y	-6,4285
Correlação	0,9902	Equação de regressão	$Y = 1,0284 * X - 6,4285$

*Cobas Mira é marca comercial registrada da Roche Diagnostics Operations, Inc, Indianapolis, IN

NOTA: os resultados para ALP em plasma podem ser cerca de 5% a 6% mais baixos que os resultados para ALP sérica.⁸ A Medica recomenda que os laboratórios clínicos estabeleçam suas próprias faixas de referência para o teste de ALP a depender do tipo de amostra.

Imprecisão (CLSI, EP5-A2)

Medições duplicadas de cada um dos três níveis do material de CQ foram testadas duas vezes ao dia, por 20 dias. Tanto a precisão durante a rodada quanto a precisão total foram determinadas a partir desses dados.

Imprecisão em uma mesma rodada:

Nível de CQ U/L	SD na rodada: U/L	CV na rodada: %
295	2,8	1,0
184	2,1	1,2
73	1,3	1,7

Imprecisão total:

Nível de CQ U/L	SD de imprecisão total U/L	CV de imprecisão total %
295	6,2	2,1
184	4,4	2,4
73	2,1	2,9

Linearidade (CLSI, EP6-A)

Linear de 10 a 800 U/L, com base na regressão linear $Y = 0,9845 * X + 3,3253$.

Limite de branco (LOB):	3,0 U/L	(CLSI, EP17-A)
Limite de detecção (LOD):	4,5 U/L	(CLSI, EP17-A)
Limite de quantificação (LOQ):	9,1 U/L	(CLSI, EP17-A, modificado)

Substâncias interferentes (CLSI EP7-A)

Interferência de até 10% foi classificada como “nenhuma interferência significativa”.

Há interferência significativa em níveis de hemoglobina acima de 500 mg/dL. Evite usar amostras de soro hemolisadas.

Nenhuma interferência significativa foi observada em níveis de até 20 mg/dL de bilirrubina.

Nenhuma interferência significativa foi observada em níveis de até 1.440 mg/dL de triglicérides (utilizando-se Intralipid[®]).

⁸Intralipid é uma marca registrada de Pharmacia AB, Clayton, NC.

Young fornece uma lista de medicamentos e outras substâncias que podem interferir em testes clínicos químicos.^{9, 10}

REFERÊNCIAS

- 1 Tietz NW. *Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd ed. WB Saunders and Co., Philadelphia, PA, p. 831-832 (1994).
- 2 Kaplan MM, Righetti A. *J Clin Inv.* 1955; 34:126.
- 3 Searcy, RL. *Diagnostic Biochemistry*. New York, NY: McGraw-Hill; 1969.
- 4 Kaplan MM. *New Engl J Med.* 1972;286:200.
- 5 Bowers, G.N., Jr., McComb, R.B.: *A continuous spectrophotometric method for measuring the activity of serum alk. phos.* *Clin Chem* 12:70-89, 1966.
- 6 Massion, C.G., Grankensfeld, J.K.: *Alkaline phosphatase: Liability in fresh and frozen human serum and in lyophilized control material.* *Clin Chem.* 18: 366, 1972.
- 7 Dados arquivados na Medica Corp.
- 8 Ciuti R., Rinaldi G. *Serum and Plasma Compared for Use in 19 Common Chemical Tests Performed in the Hitachi 737 analyzer*, *Clin. Chem.* 35:1562(1989).
- 9 Young, DS., Pestaner, L.C., Gibberman, V.; *Effects of drugs on clinical laboratory tests.* *Clin Chem* 21: 246D, 1975.
- 10 Young DS. Young's Effects on-line. *Effects of Drugs, Physiology, Preanalytical variables and herbs on Clinical Laboratory Tests.* AACC www.fxol.org

Parâmetros de análise do EasyRA (ALP)

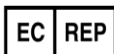
Comprimento de Onda Primário (nm)	405
Comprimento de Onda Secundário (nm)	700
Tipo de reação	Enzimática (0)
Direção de reação	Crescente
Branco de reagente	Não
Branco de amostra	Não
Alter. de abs. máx. de 1º int.	0,075
Tempo de reação	7,6 min

Soro/plasma

Volume de amostra (µl)	6,0
Volume do diluente 1 (µl)	20
Volume do diluente 2 (µl)	20
Volume do reagente R1 (µl)	200
Volume do reagente R2 (µl)	36
Casas decimais (padrão)	0
Unidades (valores padrão)	U/L
Fator de diluição	1:1 (para extensão do intervalo de medição)
Linearidade	10 a 800 U/L
Absortividade molar	18,75
Estabilidade a bordo do reagente	8 dias



Medica Corporation, 5 Oak Park Drive
Bedford, MA 01730-1413 USA



Emergo Europe, Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague, The Netherlands