

FOSFATASE ALCALINA IFCC

[REF] K224

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Método para a determinação da atividade da Fosfatase Alcalina em amostras de soro ou plasma (Heparina). Teste cinético, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO
Metodologia: Cinética IFCC

A Fosfatase Alcalina catalisa a transferência do grupo fosfato do substrato p-nitrofenilfosfato (pNFF) para o 2-amino-2-metil-1-propanol (AMP), formando o p-nitrofenol de acordo com a equação abaixo:



A velocidade de liberação do p-nitrofenol, que possui elevada absorvância a 405 nm, é proporcional a atividade enzimática da fosfatase alcalina da amostra.

REAGENTES

Número 1 - Tampão - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: 2-Amino 2-Metil Propanol < 1,0 mol/L, ativadores, estabilizante e conservante.

Número 2 - Substrato - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Substrato p-NFF (p-Nitrofenilfosfato) < 100 mmol/L, estabilizante e conservante.

APRESENTAÇÃO

Apresentação	Reagente Nº 1	Reagente Nº 2
1	R1: 1 x 40 mL	R2: 1 x 10 mL
2	R1: 2 x 40 mL	R2: 2 x 10 mL
3	R1: 3 x 40 mL	R2: 3 x 10 mL
4	R1: 4 x 40 mL	R2: 4 x 10 mL
5	R1: 2 x 40 mL	R2: 1 x 20 mL
6	R1: 4 x 40 mL	R2: 2 x 20 mL
7	R1: 6 x 36 mL	R2: 2 x 12 mL
8	R1: 1 x 20 mL	R2: 1 x 5 mL
9	R1: 2 x 20 mL	R2: 2 x 5 mL
10	R1: 3 x 20 mL	R2: 3 x 5 mL
11	R1: 4 x 20 mL	R2: 4 x 5 mL
12	R1: 1 x 60 mL	R2: 1 x 15 mL
13	R1: 2 x 60 mL	R2: 2 x 15 mL
14	R1: 3 x 60 mL	R2: 3 x 15 mL
15	R1: 4 x 60 mL	R2: 4 x 15 mL
16	R1: 1 x 120 mL	R2: 2 x 15 mL
17	R1: 2 x 120 mL	R2: 4 X 15 mL
18	R1: 1 x 120 mL	R2: 1 x 30 mL
19	R1: 2 x 120 mL	R2: 2 x 30 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Espectrofotômetro termostatizado, pipetas, relógio ou cronômetro, tubos de ensaio, Biocontrol N e Biocontrol P e Biocal Bioclin. Encontram-se no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8 °C. O transporte, em temperaturas entre 15 e 30 °C, não deverá exceder a 72 (setenta e duas) horas. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. Não congelar.

CUIDADOS ESPECIAIS

- 1- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.**
2- Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
3- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
4- Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos, agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados.
5- É importante, para o bom desempenho do teste, um rigoroso controle de tempo e temperatura.
6- Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.
7- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site www.bioclin.com.br ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.
8- Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.
9- É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

AMOSTRAS

Soro ou plasma (Heparina) livre de hemólise. O analito é estável 07 dias entre 2 e 8 °C e 30 dias a 10 °C negativos.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

A estabilidade de calibração do kit Fosfatase Alcalina IFCC instalado em equipamento com refrigeração é de pelo menos 3 dias. Esta estabilidade pode variar de acordo com as condições do teste, do equipamento e do ambiente. Portanto, sugere-se acompanhar o desempenho do produto utilizando soros controles.

PREPARO DO REAGENTE DE TRABALHO

Misturar quatro (4) partes do Reagente Nº 1 com uma (1) parte do Reagente Nº 2. O reagente de trabalho é estável durante 14 dias, entre 2 e 8°C. Armazenar ao abrigo da luz.

CONDIÇÕES DE REAÇÃO

É condição indispensável o uso de cubeta termostatizada a 37°C, caminho óptico de 1cm e leitura em 405 nm.

TÉCNICA

A Bioclin recomenda, para uso do kit, utilizar como soro controle os kits Biocontrol N e P Bioclin.

Adicionar 20 µL de amostra a 1,0 mL do reagente de trabalho, misturar e transferir para cubeta termostatizada a 37°C e esperar 1 minuto. Fazer a leitura inicial, disparando simultaneamente o cronômetro. Repetir as leituras após 1, 2 e 3 minutos. Calcular a média das diferenças de absorvância por minuto (Abs/min.) e utilizá-la para cálculo do resultado.

DESCRIÇÃO DO CÁLCULOS

Bi – reagente
ALP (U/L) = Abs/min. x 2757
Monorreagente
ALP (U/L) = Abs/min. x 3296
Os resultados serão expressos em U/L.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

O método cinético baseia-se na absortividade molar. Por essa razão, as leituras devem ser realizadas em um espectrofotômetro que cumpra as seguintes condições: Comprimento de onda 405 nm. Semi trajetória da banda de passagem 10 nm Luz espúria menor que 0,5% Cubeta de 1cm termostatizada

INTERFERENTES

Não utilizar amostras hemolisadas ou lipêmicas, pois os resultados obtidos poderão ser alterados. Triglicérides acima de 1800 mg/dL leva a resultados falsamente elevados. Valores de Bilirrubina até 35 mg/dL não interferem na reação. Valores de Hemoglobina até 100 mg/dL também não interferem na reação. Devem ser evitados tubos de coleta contendo citrato, oxalato, EDTA e fluoreto, pois estes são inibidores da atividade de fosfatase alcalina.

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

O Laboratório Clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, no qual procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente estabelecidos. É importante ressaltar que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica característica, que deve ser monitorada pelos próprios laboratórios. Para tanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens.

RASTREABILIDADE

A calibração do kit pode ser feita utilizando o fator de calibração teórico, baseado na absortividade molar do p-Nitrofenol, ou através do calibrador BIOCAL. A Bioclin recomenda o uso do calibrador BIOCAL, que também é rastreável à absortividade molar do p-Nitrofenol

VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores de referência em U/L para o presente método foram obtidos através da determinação de Fosfatase Alcalina em populações sadias.
Adultos: 27 a 100 U/L
Crianças: 75 a 390 U/L
(Incluindo adolescentes até 15 anos).
Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

DESEMPENHO DO PRODUTO

Exatidão
COMPARAÇÃO DE MÉTODOS E ESPECIFICIDADE METODOLÓGICA

O Kit foi comparado com outro método para dosagem de Fosfatase Alcalina comercialmente disponível. Foram realizadas 42 análises e os resultados foram avaliados. A equação de regressão linear obtida foi $y = 1,1027x - 0,2651$ e o coeficiente de regressão 0,9999. Com estes resultados pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

Precisão
REPETIBILIDADE

A repetitividade refere-se a 40 determinações sucessivas de Fosfatase Alcalina, utilizando-se 3 amostras com concentrações diferentes, encontrando-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (U/L)	153,1	145,9	327,9
Desvio Padrão (U/L)	1,7	1,8	2,6
Coeficiente de Variação (%)	1,14	1,22	0,78

REPRODUTIBILIDADE

A reprodutibilidade refere-se 40 determinações de Fosfatase Alcalina, em 3 dias diferentes, com 3 amostras de concentrações diferentes encontrando-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (U/L)	154,5	147,4	328,9
Desvio Padrão (U/L)	1,7	1,4	0,9
Coeficiente de Variação (%)	1,13	0,92	0,26

Sensibilidade

A sensibilidade foi calculada a partir de 40 determinações de uma amostra isenta da presença de Fosfatase Alcalina. O desvio padrão foi de 0,83. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do Método, corresponde 3 vezes o Desvio Padrão e é igual a 2,48 U/L.

Linearidade

A reação é linear até a concentração de 1500 U/L. Para amostras com valores acima de 1500 U/L, recomenda-se diluir a amostra com NaCl a 0,85%. Multiplique o resultado obtido pelo fator de diluição

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

A Fosfatase Alcalina está presente em altas concentrações nos ossos, fígado, intestino e placenta. Constitui um útil indicador de doenças hepáticas e de doenças ósseas associadas com hiperatividade osteoblástica. As condições em que a Fosfatase Alcalina está aumentada são: nas doenças hepáticas e do trato biliar, na metástase do fígado e metástase óssea, na acromegalia, no hipotireoidismo, no raquitismo, na mononucleose infecciosa, na doença de Paget (atividade osteoblástica) e no crescimento ósseo fisiológico. Valores diminuídos da Fosfatase Alcalina podem ser observados no hipotireoidismo, retardo de crescimento nas crianças, hipofosfatasia (erro metabólico inato), desnutrição grave.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1 - SCHUMANN, Gerhard; KLAUKE, Rainer; CANALIAS, Francesca; BOSSERT-REUTHER, Steffen; FRANCK, Paul F.h.; GELLA, F.-javier; JØRGENSEN, Poul J.; KANG, Dongchon; LESSINGER, Jean-marc; PANTEGHINI, Mauro. *IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 9: reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alkaline phosphatase*. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alkaline phosphatase. Clinical Chemistry And Laboratory Medicine, [s.l.], v. 49, n. 9, p. 1439-1446, 1 jan. 2011. Walter de Gruyter GmbH. <http://dx.doi.org/10.1515/cclm.2011.621>.
2 - GARDNER, M. D. *et al – Frequency distribution and ‘reference values’ of plasma alkaline phosphatase* (EC3.1.3.1) activity in the adult population of Scottish new town – J. Clin. Pathol. 31/12:1202 (1978).
3 - Quibasa: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes Bioclin são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.

DADOS DO FABRICANTE
QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: (31) 3439.5454
E-mail bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR
Serviço de Atendimento ao Cliente Tel.: 0800 0315454.
E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro do kit Fosfatase Alcalina IFCC na ANVISA: 10269360333

Revisão: Fevereiro/2021

SIMBOLOGIA UNIVERSAL

REF

NÚMERO DE CATÁLOGO

LOT

NÚMERO DO LOTE

DATA DE FABRICAÇÃO

DATA DE VALIDADE
(último dia do mês)

LIMITE DE TEMPERATURA
(conservar a)

Σ

O CONTEÚDO É SUFICIENTE
PARA <N> TESTES

i

CONSULTAR INSTRUÇÕES
DE USO

IVD

PRODUTO PARA
DIAGNOSTICO IN VITRO

PROTEGER DA
LUZ E CALOR

FABRICADO POR

CONTROL

CONTROLE

CONTROL +

CONTROLE POSITIVO

CONTROL -

CONTROLE NEGATIVO

RISCO BIOLÓGICO

INFLÂMÁVEL

CORROSIVO

TÓXICO

NÃO UTILIZAR SE A
EMBALAGEM ESTIVER
DANIFICADA

FOSFATASE ALCALINA IFCC

REF K224

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Método para la determinación de Fosfatasa Alcalina. En muestras de suero o plasma (Heparina).Test cinético, solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Cinética IFCC

La Fosfatasa Alcalina cataliza la transferencia del grupo Fosfato del sustrato p-Nitrofenilfosfato (pNFF) a 2-Amino-2-Metil-1-Propanol (AMP), liberando el p-Nitrofenol de acuerdo con la ecuación siguiente:



La velocidad de liberación de p-Nitrofenol, que tiene alta absorbancia a 405 nm, es proporcional a la actividad enzimática de la Fosfatasa Alcalina de la muestra.

REACTIVOS

Número 1 - Tampón - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: 2-Amino 2-Metil Propanol < 1,0 mol/L, activadores, estabilizante y conservante.

Número 2 - Sustrato - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Sustrato p-NFF (p-Nitrofenilfosfato) < 100 mmol/L, estabilizante y conservante.

PRESENTACIÓN

Presentación	Reactivo N° 1	Reactivo N° 2
1	R1: 1 x 40 mL	R2: 1 x 10 mL
2	R1: 2 x 40 mL	R2: 2 x 10 mL
3	R1: 3 x 40 mL	R2: 3 x 10 mL
4	R1: 4 x 40 mL	R2: 4 x 10 mL
5	R1: 2 x 40 mL	R2: 1 x 20 mL
6	R1: 4 x 40 mL	R2: 2 x 20 mL
7	R1: 6 x 36 mL	R2: 2 x 12 mL
8	R1: 1 x 20 mL	R2: 1 x 5 mL
9	R1: 2 x 20 mL	R2: 2 x 5 mL
10	R1: 3 x 20 mL	R2: 3 x 5 mL
11	R1: 4 x 20 mL	R2: 4 x 5 mL
12	R1: 1 x 60 mL	R2: 1 x 15 mL
13	R1: 2 x 60 mL	R2: 2 x 15 mL
14	R1: 3 x 60 mL	R2: 3 x 15 mL
15	R1: 4 x 60 mL	R2: 4 x 15 mL
16	R1: 1 x 120 mL	R2: 2 x 15 mL
17	R1: 2 x 120 mL	R2: 4 X 15 mL
18	R1: 1 x 120 mL	R2: 1 x 30 mL
19	R1: 2 x 120 mL	R2: 2 x 30 mL

EQUIPAMIENTO E INSUMOS OPERACIONALES

Espectrofotometro termostatzado, pipetas, reloj, cronómetro, tubos de ensayo, Biocontrol N, Biocontrol, P Bioclin y Biocal Bioclin. Materiales encontrados en el mercado especializado de artículos para Laboratorios de Análisis Clínicos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento deberá ser de 2 a 8°C. El transporte en temperaturas entre 15 y 30°C no deberá exceder a 72 (setenta y dos) horas. Mantener cubierta de la luz y evitar humedad. No congelar.

CUIDADOS ESPECIALES

- 1- **Solamente para el uso diagnóstico *in vitro* profesional.**
- 2- Seguir con rigor la metodología propuesta para obtención de resultados exactos.
- 3- El agua utilizada en la limpieza del material debe ser reciente e exenta de agentes contaminantes.
- 4- Columnas deionizadoras saturadas liberan agua alcalina, iones diversos, agentes oxidantes y reductores, que pueden alterar de forma significativa los resultados.
- 5- Es importante para un buen resultado del test un riguroso control de tiempo y temperatura.
- 6- Se recomienda la aplicación de la ley local, estatal y federal de protección ambiental para la eliminación de reactivos y material biológico se hace de acuerdo con la legislación vigente.
- 7- Para obtener información relacionada con la seguridad biológica o en caso de accidentes con el producto, consultar la FISPQ (Ficha de Informaciones de la Seguridad de Productos Químicos) disponibles en el site www.bioclin.com.br o solicitando a través del SAC (Servicio de Asesoría al Cliente) de Quibasa.
- 8- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.
- 9- Es esencial que los instrumentos y equipos utilizados estén adecuadamente calibrados y sometidos a mantenimientos periódicos.

MUESTRAS

Suero o plasma (Heparina) libre de hemolisis. El analito es estable 07 días a temperaturas entre 2 y 8°C y por 30 días a 10°C negativos.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

La estabilidad de calibración del kit de Fosfatasa Alcalina IFCC instalado en equipos refrigerados es de al menos 3 días. Esta estabilidad puede variar según las condiciones de la prueba, el equipo y el entorno. Por lo tanto, se sugiere seguir el rendimiento del producto utilizando sueros de control.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO DE TRABAJO

Mezclar cuatro (4) partes del Reactivo N° 1 con una (1) parte del Reactivo N° 2. El Reactivo de Trabajo es estable por 14 días a temperaturas entre 2 y 8°C. Mantener al abrigo de la luz

CONDICIONES DE REACCIÓN

Es condiciones indispensable el uso de cubeta termostatzada a 37°C, paso de luz de 1 cm y lectura em 405 nm.

TÉCNICA

La Bioclin recomienda, para uso del kit, utilizar como calibrador el kit Biocal Bioclin y como suero control los kits Biocontrol N y P Bioclin.

Añadir 20 µL de Muestra a 1,0 mL del Reactivo de Trabajo, mezclar y transferir para cubeta termostatzada a 37°C y esperar 1 minuto. Hacer la lectura inicial, disparando simultaneamente el cronometro. Repetir las lecturas después de 1, 2 y 3 minutos. Calcular la media de las diferencias de absorbancia por minuto (Abs/min.) y utilizar para cálculo del resultado.

CÁLCULOS

Birreactivo
ALP (U/L) = Abs/min. x 2757
Reactivo de trabajo
ALP (U/L) = Abs/min. x 3296
Los resultados serán expresos en U/L.

LIMITACIONES DEL PROCESO

El método cinético basease en la absortividad molar. Por esto, las lecturas deben ser hechas en espectrofotómetro con las siguientes condiciones:
Comprimento de onda 405 nm
Semi trayectoria de banda de pasaje 10 nm
Luz espúria menor que 0,5%
Cubeta de 1cm termostatzada

INTERFERENTES

No utilice muestras hemolizadas o lipémicas, ya que los resultados obtenidos pueden verse alterados. Los Triglicéridos por encima de 1800 mg/dL conducen a resultados falsamente altos.
Los valores de bilirrubina de hasta 35 mg/dL no interfieren con la reacción. Los valores de hemoglobina de hasta 40 mg / dL tampoco interfieren con la reacción.
Deben evitarse los tubos de recolección que contienen citrato, oxalato, EDTA y fluoruro, ya que estos son inhibidores de la actividad de la fosfatasa alcalina

CONTROL INTERNO DE CALIDAD

El Laboratorio Clínico debe poseer un programa interno de control de calidad, donde procedimientos, normas, límites y tolerancia para variaciones sean claramente establecidos. Es importante resaltar que todos los sistemas de medición presentan una variabilidad analítica característica, que debe ser vigilada por los propios laboratorios. Por lo tanto, es recomendable la utilización de controles, que permiten la evaluación, la precisión y la exactitud de las dosificaciones.

TRAZABILIDAD

El kit se puede calibrar usando el factor de calibración teórica basada en la capacidad de absorción molar del p-Nitrofenol, o a través del calibrador Biocal. Bioclin recomienda el uso del calibrador Biocal que también es trazable a la absorción molar del p-Nitrofenol.

VALORES DE REFERENCIA

Los valores de referencia en U/L, para el presente método, fueron obtenidos por la determinación de Fosfatasa Alcalina en poblaciones sanas.
Adultos: 27 a 100 U L
Niños: 75 a 390 U/L
(Incluyendo los adolescentes hasta los 15 años). Estos valores deben usarse como guía y cada laboratorio debe crear su rango de valores de referencia, de acuerdo con la población atendida.

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO

Exactitud
COMPARACIÓN DE METODOS Y ESPECIFICIDAD
METODOLÓGICA

El kit Fosfatasa Alcalina IFCC fue comparado con outro método para dosificación de Fosfatasa comercialmente disponible. Fueron realizadas 42 análisis y los resultados fueron evaluados. La ecuación linear obtenida fue $y = 1,1027x - 0,2651$, con coeficiente de correlación igual a 0,9999. Con estos resultados se puede concluir que el kit presenta buena especificidad metodológica.

Precisión
REPETIBILIDAD

La repetibilidad fue calculada a partir de 40 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Concentración Promedio (U/L)	153,1	145,9	327,9
Desviacion estandar (U/L)	1,7	1,8	2,6
Coeficiente de Variación (%)	1,14	1,22	0,78

REPRODUCTIBILIDAD

La reproductibilidad fue calculada a partir de 40 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Concentración Promedio (U/L)	154,5	147,4	328,9
Desviacion estandar (U/L)	1,7	1,4	0,9
Coeficiente de Variación (%)	1,13	0,92	0,26

Sensibilidad

La sensibilidad fue calculada a partir de 40 determinaciones de uma muestra exenta de Fosfatasa. El desviacion estándar fue 0,83 U/L.
La sensibilidad, que indica el límite de detección del método, corresponde 3 veces el desviacion estándar siendo 2,48 U/L.

Linealidad

La reacción es linear hasta la concentración de 1500 U/L. Para muestras con valores encima de 1500 U/L, se recomienda diluir la muestra con NaCl 0,85%. Multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

La Fosfatasa Alcalina esta presente en altas concentraciones en huesos, hígado, intestino y placenta. Constitue un util indicador de enfermedades hepáticas y de enfermedades oseas asociadas con hiperatividad osteoblástica. Las condiciones en que aumenta de la Fosfatase Alcalina son: en enfermedades hepáticas y del trato biliar, en la metastasis del hígado y metastasis osea, em la acromegalia, en el hipertireoidismo, en el raquitismo, en la mononucleosis infecciosa, en la enfermedades de Paget (actividad osteoblástica) y en el crecimiento oseó fisiológico. Valores disminuídos de la Fosfatasa Alcalina pueden ser observados en el hipotireoidismo, retardo de crecimiento en los niños, hipofosfatasia (error metabólico inato), desnutrición grave.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1 - SCHUMANN, Gerhard; KLAUKE, Rainer; CANALIAS, Francesca; BOSSERT-REUTHER, Steffen; FRANCK, Paul F.h.; GELLA, F.-javier; JØRGENSEN, Poul J.; KANG, Dongchon; LESSINGER, Jean-marc; PANTEGHINI, Mauro. *IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 9: reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alkaline phosphatase*. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alkaline phosphatase. Clinical Chemistry And Laboratory Medicine, [s.l.], v. 49, n. 9, p. 1439-1446, 1 jan. 2011. Walter de Gruyter GmbH. <http://dx.doi.org/10.1515/cclm.2011.621>.
2 - GARDNER, M. D. et al – *Frequency distribution and 'reference values' of plasma alkaline phosphatase* (EC3.1.3.1) activity in the adult population of Scottish new town – J. Clin. Pathol. 31/12:1202 (1978).
3 – Quibasa: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de ser liberados para el consumo, todos los reactivos Bioclin son testados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos es asegurada hasta la fecha de validad mencionada en la caja de presentación, si almacenados y transportados en condiciones adecuadas.

DATOS DEL FABRICANTE
QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: +55 (31) 3439.5454
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Industria Brasileira

ATENDIMIENTO AL CONSUMIDOR

Servicio de Asesoría al Cliente
Tel.: 0800 0315454.
E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro del kit de Fosfatasa Alcalina IFCC en la ANVISA: 10269360333

Revisión: Febrero/2021

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

	NÚMERO DEL CATÁLOGO		ELABORADO POR
	NÚMERO DE LOTE		CONTROL
	FECHA DE FABRICACIÓN		CONTROL POSITIVO
	ESTABLE HASTA (último día del mes)		CONTROL NEGATIVO
	TEMPERATURA LIMITE (conservar a)		RIESGO BIOLÓGICO
	CONTENIDO SUFICIENTE PARA <N> TESTES		INFLAMABLE
	CONSULTAR INSTRUCCIONES DE USO		CORROSIVO
	DISPOSITIVO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DEL LUZ Y CALOR		NO UTILICE SI EL EMBALAJE ESTA DAÑADA

ALKALINE PHOSPHATASE IFCC

[REF] K224

USAGE INSTRUCTIONS

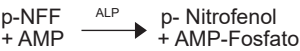
FUNCTION

Method for determination of Alkaline Phosphatase. In serum or plasma (Heparin) samples.Kinetic test, only for *in vitro* diagnostic use.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Kinetic IFCC

The Alkaline Phosphatase catalyzes the transfer of Phosphate group from the substrate p-Nitrophenylphosphate (pNPP) to 2-Amino-2-Methyl-1-Propanol (AMP), releasing p-Nitrophenol according to the equation below:



REAGENTS

Number 1 - Buffer - Store between 2 and 8°C. Contains: 2-Amino 2-Methyl Propanol < 1.0 mol/L, activators, stabilizer and preservative.

Number 2 - Substrate - Store between 2 and 8°C. Contains: p-NFF Substrate p-Nitrophenylphosphate

PRESENTATION

Presentation	Reagent N°1	Reagent N°2
1	R1: 1 x 40 mL	R2: 1 x 10 mL
2	R1: 2 x 40 mL	R2: 2 x 10 mL
3	R1: 3 x 40 mL	R2: 3 x 10 mL
4	R1: 4 x 40 mL	R2: 4 x 10 mL
5	R1: 2 x 40 mL	R2: 1 x 20 mL
6	R1: 4 x 40 mL	R2: 2 x 20 mL
7	R1: 6 x 36 mL	R2: 2 x 12 mL
8	R1: 1 x 20 mL	R2: 1 x 5 mL
9	R1: 2 x 20 mL	R2: 2 x 5 mL
10	R1: 3 x 20 mL	R2: 3 x 5 mL
11	R1: 4 x 20 mL	R2: 4 x 5 mL
12	R1: 1 x 60 mL	R2: 1 x 15 mL
13	R1: 2 x 60 mL	R2: 2 x 15 mL
14	R1: 3 x 60 mL	R2: 3 x 15 mL
15	R1: 4 x 60 mL	R2: 4 x 15 mL
16	R1: 1 x 120 mL	R2: 2 x 15 mL
17	R1: 2 x 120 mL	R2: 4 X 15 mL
18	R1: 1 x 120 mL	R2: 1 x 30 mL
19	R1: 2 x 120 mL	R2: 2 x 30 mL

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Thermostated spectrophotometer, pipettes, atch or stopwatch, test tubes, Biocontrol N, Biocontrol P Bioclin and Biocal Bioclin They can be found at markets specialized on Laboratories of Clinical Analysis.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The storage temperature should be between 2 to 8°C. The transport at temperatures between 15 and 30°C should not exceed 72 (seventy two) hours. Protect from light and avoid moisture. **Do not freeze.**

SPECIAL CARE

- 1- For professional in vitro diagnostic use only.**
- 2-** Strictly follow the methodology proposed to obtain exact results.
- 3-** Water used in material cleaning must to be recent and free of contaminants.
- 4-** Saturated deionizer columns release alkaline water, many ions, oxidizing agents and reducers, that may alter the results significantly.
- 5-** It is important, for the good development of the test, a rigorous control of time and temperature.
- 6-** We recommend applying the local, state and federal rules for environmental protection, so that disposal of reagents and biological material can be made in accordance with current legislation.
- 7-** To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the MSDS (Material Safety Data Sheet) available on the website www.bioclin.com.br or upon request by the SAC (Customer Advisory Service) of Quibasa.
- 8-** Do not use the product in case of damaged packaging.
- 9-** It is essential that the instruments and equipments used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

SAMPLES

Serum or plasma (Heparin) free of hemolysis. The analyte is stable for 07 days if kept in temperature between 2 and 8°C and 30 days if kept at 10°C negative.

PROCESS DESCRIPTION

The calibration stability of the Alkaline Phosphatase IFCC kit installed on refrigerated equipment is at least 3 days. This stability may vary depending on the conditions of the test, equipment and environment. Therefore, it is suggested to follow the product performance using control serum.

PREPARATION OF WORKING REAGENT

Mix four (4) parts of Reagent N° 1 with one (1) part of Reagent N° 2. Working Reagent is stable during 14 days, if kept between 2 and 8°C. Store away from light.

REACTION CONDITIONS

It is indispensable conditions to use a thermostated cuvette at 37°C, 1 cm optical path and reading at 405 nm.

TECHNIQUE

Bioclin recommends using the kit Biocal Bioclin as calibrator and as control serum, Biocontrol N and P Bioclin Kits. Add 20 µL of Sample to 1.0 mL of Working Reagent, mix and transfer to a thermostated cuvette at 37°C and wait for 1 minute. Make the initial Reading simultaneously starting the stopwatch. Repeat readings after 1, 2 and 3 minutes. Calculate the mean differences in absorbance per minute (Abs/min.) and use it to calculate the result

CALCULATIONS

Bi reagent
ALP (U/L) = Abs/min. x 2757
Monoreagent
ALP (U/L) = Abs/min. x 3296
Results are expressed as U/L

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

The kinetic method is based on the molar absorptivity. By this reason, the readings must be conducted in a spectrophotometer that satisfies the following conditions: Wavelength 405 nm Semi trajectory of the pass band 10 nm Stray light less than 0.5% 1cm thermostated cuvette.

INTERFERENCES

Do not use hemolyzed or lipemic samples, as the results obtained may be altered. Triglycerides above 1800mg / dL lead to falsely high results. Bilirubin values up to 35mg / dL do not interfere with the reaction. Hemoglobin values up to 40mg/dL also do not interfere with the reaction. Collection tubes containing citrate, oxalate, EDTA and fluoride should be avoided, as these are inhibitors of alkaline phosphatase activity.

INTERNAL QUALITY CONTROL

The Clinical Laboratory must have an internal quality control, where all procedures, rules, limits and tolerance to variations be clearly established. It is important to mention that all measurement systems present a analytical variety, and it must be monitor by the laboratory. Therefore, it is recommendable the use of controls, allowing the precision and accuracy of the dosages.

TRACEABILITY

The kit calibration can be made using the theoretical calibration factor based on the molar absorptivity of the p-Nitrophenol, or through the Biocal calibrator. Bioclin recommends the usage of the Biocal calibrator which is also traceable to the molar absorptivity of the p-Nitrophenol.

REFERENCE VALUES

The reference values in U/L, for this method were obtained through the determination of Alkaline Phosphatase in healthy populations.

Adults: 27 to 100 U/L

Children: 75 to 390 U/L

(Including teenager up to 15 years old)

These values should be use as reference, being that every laboratory must create their own range of values for reference, according to the population served.

PRODUCT PERFORMANCE QUALITY CONTROL

Accuracy

COMPARISON OF METHODS AND SPECIFICITY METHODOLOGY

The Alkaline Phosphatase IFCC was compared with other commercially available methods for measurement of Phosphatase. 42 analyzes were performed and the results were evaluated. The linear equation obtained was $y = 1.1027x - 0.2651$ and the correlation coefficient 0.9999. With these results, we can conclude that the kit shows good methodological specificity.

Precision

REPEATABILITY

The repeatability was calculated from 40 successive determinations, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Average Concentration (U/L)	153.1	145.9	327.9
Standard Deviation (U/L)	1.7	1.8	2.6
Coefficient of Variation (%)	1.14	1.22	0.78

REPRODUCIBILITY

The reproducibility was calculated from 40 successive determinations for 3 consecutive days, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Average Concentration (U/L)	154.5	147.4	328.9
Standard Deviation (U/L)	1.7	1.4	0.9
Coefficient of Variation (%)	1.13	0.92	0.26

Sensitivity

The sensitivity was calculated from 40 determinations of a sample free the Phosphatase. The standard deviation was 0.83 U/L. The sensitivity, that indicates the method detection limit, corresponds to 3 times the standard deviation is equal to 2.48 U/L.

Linearity

The reaction is linear up to the concentration of 1500 U/L. For sample with value above 1500 U/L, we recomend diluting the sample with NaCl 0.85%. Multiply the results obtained by the dilution factor.

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

Alkaline Phosphatase is present in high concentrations bone, liver, intestine and placenta. Constitutes a useful indicator of liver and bone diseases associated with osteoblastic hyperactivity. The conditions under which Alkaline Phosphatase is increased are: the liver and biliary tract, metastasis liver and bone metastasis, in acromegaly, in hyperthyroidism, in rickets, infectious mononudeosis, Paget's disease (osteoblastic activity) and in physiologic bone growth. Decreased values of Alkaline Phosphatase may be observed in hypothyroidism, growth retardation in children, hypophosphatasia (inborn metabolic error) and severe malnutritionplacenta.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

1 - SCHUMANN, Gerhard; KLAUKE, Rainer; CANALIAS, Francesca; BOSSERT-REUTHER, Steffen; FRANCK, Paul F.h.; GELLA, F.-javier; JØRGENSEN, Poul J.; KANG, Dongchon; LESSINGER, Jean-marc; PANTEGHINI, Mauro. *IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 9: reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alkaline phosphatase*. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alkaline phosphatase. Clinical Chemistry And Laboratory Medicine, [s.l.], v. 49, n. 9, p. 1439-1446, 1 jan. 2011. Walter de Gruyter GmbH. <http://dx.doi.org/10.1515/cclm.2011.621>.

2 - GARDNER, M. D. et al – *Frecuency distribution and 'reference values' of plasma alkaline phosphatase* (EC3.1.3.1) activity in the adult population of Scottish new town – J. Clin. Pathol. 31/12:1202 (1978).

3 - Quibasa: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

QUALITY ASSURANCE

Before being released for consumption, all **Bioclin** reagents are tested by the Department of Quality Control. The quality of reagents is assured until expiration date stated on the presentation packaging, when stored and transported under appropriate conditions.



MANUFACTURER DATA

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Phone.: +55 (31) 3439.5454
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Made in Brazil

CUSTOMER SERVICE

Customer Advisory Service
Phone.: 0800 0315454.
E-mail: sac@bioclin.com.br

ANVISA registration for Alkaline Phosphatase IFCC kit:
10269360333

Review: February/2021

UNIVERSAL SYMBOLOGY



CATALOG NUMBER



MANUFACTURED BY



BATCH CODE



CONTROL



DATE OF MANUFACTURE



POSITIVE CONTROL



USED BY
(last day of month)



NEGATIVE CONTROL



TEMPERATURE LIMITATION
(store at)



BIOLOGICAL RISK



CONTAINS SUFFICIENT
FOR <N> TESTS



INFLAMMABLE



CONSULT INSTRUCTIONS
FOR USE



CORROSIVE



IN VITRO DIAGNOSTIC DEVICE



POISON



KEEP AWAY
FROM SUNLIGHT



DO NOT USE IF
PACKAGE IS
DAMAGED