

FOSFATASE ALCALINA

REF K019  
INSTRUÇÕES DE USO



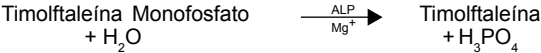
FINALIDADE

Método para a determinação da Fosfatase Alcalina. Teste colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

**Metodologia:** Roy Modificado

A Fosfatase Alcalina presente na amostra hidrolisa o Substrato de Timolfaleína Monofosfato, liberando Timolfaleína e Fosfato Inorgânico, em um tempo pré-determinado de 10 minutos. A atividade enzimática é proporcional à quantidade de Timolfaleína formada, que é medida colorimetricamente. Com a adição do Reagente de Cor, a reação enzimática é inativada e a Timolfaleína adquire cor azul. Como o Substrato e o produto da reação apresentam cores diferentes, em meio alcalino, a coloração final é constituída por uma mistura de cores.



REAGENTES

**Número 1 - Substrato** - Conservar entre 15 e 30°C. Após o manuseio conservar entre 2 e 8°C em frasco bem vedado para evitar evaporação. O reagente pode apresentar turvação ou precipitado, fato que não interfere na sua qualidade. Agitar antes de usar. Contém: Timolfaleína Monofosfato 40 mmol/L, solubilizante e estabilizador.

**Número 2 - Tampão** - Conservar entre 15 e 30°C. Após o uso, fechar o frasco para evitar contaminação com CO<sub>2</sub> do ar. Contém: Dietanolamina 0,3 mol/L pH 9,9, Citrato de Sódio 10 mmol/L, surfactante e ativador.

**Número 3 - Reagente de Cor** - Conservar entre 15 e 30°C. Contém: Carbonato de Sódio 150 mmol/L e Hidróxido de Sódio 100 mmol/L.

**Número 4 - Padrão 40 U/L** - Conservar entre 15 e 30°C. Após o manuseio conservar entre 2 e 8°C em frasco bem vedado para evitar evaporação. Contém: Timolfaleína 0,4 mmol/L (40 U/L) e solubilizante.

APRESENTAÇÃO

| Reagentes     | Volume |
|---------------|--------|
| Reagente Nº 1 | 5 mL   |
| Reagente Nº 2 | 50 mL  |
| Reagente Nº 3 | 200 mL |
| Reagente Nº 4 | 3 mL   |

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Espectrofotômetro ou colorímetro, banho-maria 37°C, relógio ou cronômetro, pipetas, tubos de ensaio, Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin. Encontram-se no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento e transporte deverá ser de 15 a 30°C. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade.

CUIDADOS ESPECIAIS

- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.**
- Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados.
- O nível de água no banho-maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio.
- O Reagente Nº 3 deve ser manuseado com cuidado, pois apresenta ação corrosiva.
- 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.
- 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](http://www.bioclin.com.br) ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.
- Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.

AMOSTRAS

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

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

TÉCNICA

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

Marcar 3 tubos de ensaio com as letras B (Branco), P (Padrão), A (Amostra) e proceder como a seguir:

|                                                          | Branco | Padrão | Amostra |
|----------------------------------------------------------|--------|--------|---------|
| Reagente Nº1                                             | 50 µL  | 50 µL  | 50 µL   |
| Reagente Nº2                                             | 500 µL | 500 µL | 500 µL  |
| Reagente Nº4                                             | --     | 50 µL  | --      |
| Incubar a 37°C por 2 minutos.                            |        |        |         |
| Amostra                                                  | --     | --     | 50 µL   |
| Homogeneizar e incubar a 37°C por exatamente 10 minutos. |        |        |         |
| Reagente Nº3                                             | 2,0 mL | 2,0 mL | 2,0 mL  |

Homogeneizar bem e determinar a absorbância da Amostra e do Padrão em 578 nm (570 - 590), acertando o zero com o Branco. A cor é estável por 60 minutos.

CÁLCULOS

Fosfatase Alcalina =  $\frac{\text{Absorbância da amostra}}{\text{Absorbância do padrão}} \times 40$  (U/L)

Como a reação de cor segue a lei de Lambert Beer, pode-se usar o Fator de calibração:

Fator de calibração =  $\frac{\text{Concentração padrão (40 U/L)}}{\text{Absorbância do padrão}}$

U/L = Absorbância da amostra x Fator de calibração

Os resultados serão expressos em U/L.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

A metodologia não pode ser adaptada em aparelhos de automação.

INTERFERENTES

Não utilizar amostras hemolisadas ou lipêmicas, pois tais amostras podem elevar falsamente os resultados.

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

O Laboratório Clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, onde 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.

VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores de referência em U/L, para o presente método, foram obtidos através da determinação da Fosfatase Alcalina em populações sadias do sexo masculino e feminino.

Adultos: 12 a 43 U/L

Crianças até 12 anos: 56 a 156 U/L

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

CONTROLE DE QUALIDADE

Exatidão

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS E ESPECIFICIDADE METODOLÓGICA

O Kit Fosfatase Alcalina foi comparado com outro método para dosagem de fosfatase, comercialmente disponível. Foram realizadas 07 análises e os resultados foram avaliados. A equação linear obtida foi Y = 1,009X - 0,117, com coeficiente de correlação linear

igual a 0,999. com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

Precisão  
REPETIBILIDADE

A repetibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

|                              | Amostra 1 | Amostra 2 | Amostra 3 |
|------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Concentração Média (U/L)     | 17,35     | 41,55     | 101,60    |
| Desvio Padrão (U/L)          | 0,75      | 0,76      | 0,75      |
| Coefficiente de Variação (%) | 4,29      | 1,83      | 0,74      |

REPRODUTIBILIDADE

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

|                              | Amostra 1 | Amostra 2 | Amostra 3 |
|------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Concentração Média (U/L)     | 17,60     | 41,38     | 101,32    |
| Desvio Padrão (U/L)          | 0,22      | 0,14      | 0,25      |
| Coefficiente de Variação (%) | 1,24      | 0,35      | 0,24      |

Sensibilidade

A sensibilidade foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra isenta da presença de fosfatase. A média encontrada foi 0,419 U/L, com desvio padrão de 0,004 U/L. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde a 3 vezes o desvio padrão, sendo igual a 0,429 U/L.

Linearidade

A reação é linear até 500 U/L. Para valores maiores, diluir o soro com Cloreto de sódio 0,85%, repetir a dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

AFosfatase 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. Condições em que a Fosfatase Alcalina está aumentada: nas doenças hepáticas e do trato biliar, na metástase do fígado e metástase óssea, na acromegalia, no hipertireoidismo, 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.

NÚMERO DE TESTES

100 Testes/50 µL de amostra/2,5mL de Reagente  
200 Testes/25 µL de amostra/1,25mL de Reagente

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - COLEMAN, C. M.; STROJE, R. C.: Clin. Chem. Acta 13: 401, 1966.
- 2 - ROY, A. V.: Clin. Chem. 16:431, 1970.
- 3 - ZAK, B.: Clin Chim. Acta 3: 328, 1958.
- 4 - BRITTENHAM, G.: Clin Chim. Acta. 91: 203, 1979.
- 5 - TONKS, D. B.: Chim. Acta 2: 393, 1983.
- 6 - CARL, A. B. and EDWARD, R. A.: Tietz Textbook of Clinical Chem 2nd ed., 1994, 1942-1943.

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.

 **QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda**

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: ( 31 ) 3439.5454 - Fax: ( 31 ) 3439.5455  
E-mail: bioclin@bioclin.com.br  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

 **OBELIS S.A.**

Bd. Général Wahis, 53  
1030 Brussels, Belgium

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente  
Tel.: 0800 0315454.  
E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro do kit de Fosfatase Alcalina na ANVISA: 10269360104.

Revisão: Julho/2017

SIMBOLOGIA UNIVERSAL

|                                                                                                |                                            |                                                                                       |                                                      |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
|  <b>REF</b> | NÚMERO DE CATÁLOGO                         |    | FABRICADO POR                                        |
|  <b>LOT</b> | NÚMERO DO LOTE                             |    | CONTROLE                                             |
|            | DATA DE FABRICAÇÃO                         |   | CONTROLE POSITIVO                                    |
|           | DATA DE VALIDADE<br>(último dia do mês)    |  | CONTROLE NEGATIVO                                    |
|           | LIMITE DE TEMPERATURA<br>(conservar a)     |  | RISCO BIOLÓGICO                                      |
|           | O CONTEÚDO É SUFICIENTE<br>PARA <N> TESTES |  | INFLÂMABEL                                           |
|           | CONSULTAR INSTRUÇÕES<br>DE USO             |  | CORROSIVO                                            |
|           | PRODUTO PARA<br>DIAGNÓSTICO IN VITRO       |  | TÓXICO                                               |
|           | REPRESENTANTE<br>EUROPEU AUTORIZADO        |  | MARCA CE                                             |
|           | PROTEGER DA<br>LUZ E CALOR                 |  | NÃO UTILIZAR SE A<br>EMBALAGEM ESTIVER<br>DANIFICADA |

FOSFATASA ALCALINA

REF K019

INSTRUCCIONES DE USO



FINALIDAD

Método para la determinación de Fosfatasa Alcalina. Prueba colorimétrica, solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Roy Modificado

La Fosfatasa Alcalina presente en la muestra hidroliza el Substrato de Timolfaleína Monofosfato, liberando Timolfaleína y Fosfato Inorgánico, en un tiempo predeterminado de 10 minutos. La actividad enzimática es proporcional la cantidad de Timolfaleína formada, que es medida colorimétricamente. Con la adición del Reactivo de Color, la reacción enzimática es inactivada y la Timolfaleína adquiere color azul. Como el Substrato y el producto de la reacción presentan colores diferentes, en medio alcalino, la coloración final es constituida por una mezcla de colores.



REACTIVOS

**Número 1 - Sustrato** - Almacenar entre 15 y 30°C. Después del manipuleo almacenar entre 2 y 8°C en frasco bien cerrado para evitar evaporación. El reactivo puede presentar turbiedades o precipitado, hechos que no interfieren en la calidad. Agitar antes de usar. Contiene: Timolfaleína Monofosfato 40 mmol/L, solubilizante y estabilizador.

**Número 2 - Tampón** - Almacenar entre 15 y 30°C. Después del uso, tapar el frasco para evitar contaminación con CO<sub>2</sub> del aire. Contiene: Dietanolamina 0,3 mol/L pH 9,9, Citrato de Sodio 10 mmol/L, surfactante y activador.

**Número 3 - Reactivo de Color** - Almacenar entre 15 y 30°C. Contiene: Carbonato de Sodio 150 mmol/L y Hidróxido de Sodio 100 mmol/L.

**Número 4 - Patrón 40 U/L** - Almacenar entre 15 y 30°C. Después del manipuleo almacenar entre 2 y 8°C en frasco bien cerrado para evitar evaporación. Contiene: Timolfaleína 0,4 mmol/L (40 U/L) y solubilizante.

PRESENTACIÓN

| Reactivos     | Volumen |
|---------------|---------|
| Reactivo Nº 1 | 5 mL    |
| Reactivo Nº 2 | 50 mL   |
| Reactivo Nº 3 | 200 mL  |
| Reactivo Nº 4 | 3 mL    |

EQUIPAMIENTO E INSUMOS OPERACIONALES

Espectrofotómetro o colorímetro, baño maria a 37°C, reloj o cronómetro, pipetas, tubos de ensayo, Biocontrol N y Biocontrol P Bioclin. Materiales encontrados en el mercado especializado de artículos para Laboratórios de Análisis Clínicos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento y transporte deba ser de 15 a 30°C. Mantener al abrigo de la luz y evitar humedad.

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 y exenta de agentes contaminantes.
- 4- Columnas deionizadoras saturadas liberan agua alcalina, iones diversos y agentes oxidantes y reductores, que pueden alterar de forma significativa los resultados.
- 5- El nivel de agua en el baño maria debe ser superior al nivel de los reactivos en los tubos de ensayo.
- 6- El Reactivo Nº 3 debe ser manipulado con cuidado, pues presenta acción corrosiva.
- 7- 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.
- 8- 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](http://www.bioclin.com.br) o solicitando a través del SAC (Servicio de Asesoría al Cliente) de Quibasa.
- 9- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

MUESTRAS

Suero o plasma (heparina) obtenido libre de hemólisis. El analito es estable 7 días a temperaturas entre 2 y 8°C y, 30 días a -10°C.

TÉCNICA

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

Marcar 3 tubos de ensayo con as letras B (Blanco), P (Patrón), M (Muestra) y proceder como sigue:

|                                                      | Blanco | Patrón | Muestra |
|------------------------------------------------------|--------|--------|---------|
| Reactivo Nº1                                         | 50 µL  | 50 µL  | 50 µL   |
| Reactivo Nº2                                         | 500 µL | 500 µL | 500 µL  |
| Reactivo Nº4                                         | --     | 50 µL  | --      |
| Incubar a 37° C por 2 minutos.                       |        |        |         |
| Muestra                                              | --     | --     | 50 µL   |
| Homogenizar e incubar a 37°C exactamente 10 minutos. |        |        |         |
| Reactivo Nº3                                         | 2,0 mL | 2,0 mL | 2,0 mL  |

Homogenizar bien y determinar la absorbancia de la Muestra y del Patrón en 578 nm (570 - 590), ajustando el cero con el Blanco. El color es estable por 60 minutos.

CALCULOS

Fosfatasa Alcalina =  $\frac{\text{Absorbancia de la muestra}}{\text{Absorbancia del patrón}} \times 40$

(U/L)

Como la reacción de color sigue la ley de Lambert Beer, puede usar el Factor de calibración:

Factor de calibración =  $\frac{\text{Concentración patrón (40 U/L)}}{\text{Absorbancia del patrón}}$

U/L = Absorbancia de la muestra x Factor de calibración

Los resultados se expresan en U/L.

LIMITACIONES DEL PROCESO

Esta metodología no puede ser adaptada en aparatos automáticos.

INTERFERENTES

No utilizar muestras hemolizadas o lipémicas, porque pueden dar resultados falsos.

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.

VALORES DE REFERENCIA

Los valores de referencia en U/L, para el presente método, fueron obtenidos por determinación de la Fosfatasa Alcalina en poblaciones sanas del sexo masculino y femenino.

Adultos: 12 a 43 U/L

Niños hasta 12 años: 56 a 156 U/L

Estes valores deben ser usados como orientación. Pues, que cada laboratorio deberá crear su rango de valores de referencia de acuerdo con la población atendida.

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO

CONTROL DE CALIDAD

Exactitud

COMPARACIÓN DE METODOS Y ESPECIFICIDAD METODOLÓGICA

El kit Fosfatasa Alcalina fue comparado con otro método para dosificación de fosfatasa comercialmente

disponible. Fueron realizadas 07 análisis y los resultados fueron evaluados. La ecuación lineal obtenida fue  $Y = 1,009X - 0,117$ , con coeficiente de correlación igual a 0,999. Con estos resultados se puede concluir que el Kit presenta buena especificidad metodológica.

### Precisión

#### REPETIBILIDAD

La repetibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

|                                     | Muestra 1 | Muestra 2 | Muestra 3 |
|-------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| <b>Concentración Promedio (U/L)</b> | 17,35     | 41,55     | 101,60    |
| <b>Desvío Patrón (U/L)</b>          | 0,75      | 0,76      | 0,75      |
| <b>Coeficiente de Variación (%)</b> | 4,29      | 1,83      | 0,74      |

#### REPRODUCTIBILIDAD

La reproductibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

|                                     | Muestra 1 | Muestra 2 | Muestra 3 |
|-------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| <b>Concentración Promedio (U/L)</b> | 17,60     | 41,38     | 101,32    |
| <b>Desvío Patrón (U/L)</b>          | 0,22      | 0,14      | 0,25      |
| <b>Coeficiente de Variación (%)</b> | 1,24      | 0,35      | 0,24      |

### Sensibilidad

La sensibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones de una muestra exenta de la presencia del fosfatasa. El promedio encontrado fue 0,419 U/L, con desvío patrón de 0,004 U/L. La sensibilidad, que indica el límite de detección del método, corresponde el promedio mas 3 veces el desvío patrón siendo 0,429 U/L.

### Linealidad

La reacción es lineal hasta 500 U/L. Para valores mayores, diluir el suero con Cloruro de sodio 0,85%, repetir la dosificación y multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución.

### SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

La Fosfatasa Alcalina esta presente en altas concentraciones en los huesos, hígado, intestino y placenta. Constituye indicador de enfermedades hepáticas y de enfermedades óseas asociadas con hiperactividad osteoblástica. Condiciones en que la Fosfatasa Alcalina esta aumentada: en las enfermedades hepáticas y del tracto biliar, metástasis del hígado y metástasis ósea, acromegalia, hipertiroidismo, raquitismo, mononucleosis infecciosa, enfermedad de Paget (actividad osteoblástica) y crecimiento óseo fisiológico.

Valores disminuidos de la Fosfatasa Alcalina pueden ser observados en el hipotiroidismo, retardo de crecimiento y hipofosfatasia (error metabólico innato), desnutrición grave.

### NÚMERO DE PRUEBAS

100 Pruebas/50  $\mu$ L de muestra/2,5mL de Reactivo  
200 Pruebas/25  $\mu$ L de muestra/1,25mL de Reactivo

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - COLEMAN, C. M.; STROJE, R. C.: Clin. Chem. Acta 13: 401, 1966.
- 2 - ROY, A. V.: Clin. Chem. 16:431, 1970.
- 3 - ZAK, B.: Clin Chim. Acta 3: 328, 1958.
- 4 - BRITTENHAM, G.: Clin Chim. Acta. 91: 203, 1979.
- 5 - TONKS, D. B.: Chim. Acta 2: 393, 1983.
- 6 - CARL, A. B. and EDWARD, R. A.: Tietz Textbook of Clinical Chem 2nd ed., 1994, 1942-1943.

### GARANTÍA DE CALIDAD

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



#### QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: +55 (31) 3439.5454 - Fax: +55 (31) 3439.5455  
E-mail: bioclin@bioclin.com.br  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Industria Brasileira



#### OBELIS S.A.

Bd. Général Wahis, 53  
1030 Brussels, Belgium

### 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 en la ANVISA: 10269360104.

Revisión: Julio/2017

## SIMBOLOGÍA UNIVERSAL



NÚMERO DEL CATÁLOGO



NÚMERO DE LOTE



FECHA DE FABRICACIÓN



ESTABLE HASTA  
(último día del mes)



TEMPERATURA LÍMITE  
(conservar a)



CONTENIDO SUFICIENTE  
PARA <N> TESTES



CONSULTAR INSTRUCCIONES  
DE USO



DISPOSITIVO DE  
DIAGNÓSTICO IN VITRO



EUROPEA REPRESENTANTE  
AUTORIZADO



PROTEGER DEL  
LUZ Y CALOR



ELABORADO POR



CONTROL



CONTROL POSITIVO



CONTROL NEGATIVO



RIESGO BIOLÓGICO



INFLAMABLE



CORROSIVO



TÓXICO



MARCADO CE



NO UTILICE SI EL  
EMBALAJE ESTA  
DAÑADA

ALKALINE PHOSPHATASE

REF K019

USAGE INSTRUCTIONS

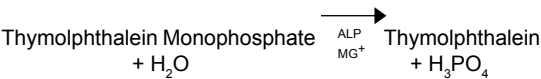
FUNCTION

Method for determination of Alkaline Phosphatase. Colorimetric test, only for *in vitro* diagnostic use.

PRINCIPLE OF ACTION

**Methodology:** Modified Roy.

The Alkaline Phosphatase present in the sample hydrolyzes Substrate Thymolphthalein Monophosphate, releasing Thymolphthalein and Inorganic Phosphate in a predetermined time of 10 minutes. The enzyme activity is proportional to the amount Thymolphthalein formed, which is measured colorimetrically. With the addition of Color Reagent, the enzymatic reaction is inactivated and acquires color Thymolphthalein blue. As the Substrate and the reaction product present different colors, in an alkaline environment, the final color is established by a mixture of colors.



REAGENTS

**Number 1 - Substrate** - Store between 15 and 30°C. After it is used store between 2 and 8°C in well sealed flasks to avoid evaporation. Reagent can present turbidity or precipitation, fact that does not interfere in its quality. Agitate before using it. Contains: Thymolphthalein Monophosphate 40 mmol/L, solubilizer and stabilizer.

**Number 2 - Buffer** - Store between 15 and 30°C. After its use seal the flask to avoid contamination with CO<sub>2</sub> from the air. Diethanolamine 0,3 mol/L pH 9,9, Sodium Citrate 10 mmol/L surfactant and activator.

**Number 3 - Color Reagent** - Store between 15 and 30°C. Contains: Sodium Carbonate 150 mmol/L and Sodium Hydroxide 100 mmol/L.

**Number 4 - Standard 40 U/L** - Store between 15 and 30°C. After it is used store between 2 and 8°C in well sealed flasks to avoid evaporation. Contains: Thymolphthalein 0,4 mmol/L (40U/L) and solubilizer.

PRESENTATION

| Reagents     | Volume |
|--------------|--------|
| Reagent Nº 1 | 5 mL   |
| Reagent Nº 2 | 50 mL  |
| Reagent Nº 3 | 200 mL |
| Reagent Nº 4 | 3 mL   |

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Spectrophotometer or colorimeter with reading at 340 nm with a bath at 37°C, watch or stopwatch, pipettes,

test tubes, Calibrator, Bicontrol N and Biocontrol P Bicolin. They can be found at markets specialized on Laboratories of Clinical Analysis.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The transport at temperatures between 15 and 30°C. Protect from light and avoid moisture.

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- Water level at water bath must be superior to the level of the reagents in the test tubes.
- 6- Reagent Nº 3 must be handled carefully, for it presents corrosive action.
- 7- 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.
- 8- 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](http://www.bioclin.com.br) or upon request by the SAC (Advisory Service Customer) of Quibasa.
- 9- Do not use the product in case of damaged packaging.

PROCESS DESCRIPTION

SAMPLES

Serum or plasma (heparin) obtained free of hemolysis. The analyte is stable for 07 days if kept between 2 and 8°C and 30 days if kept at -10°C.

TECHNIQUE

Bioclin recommends, as control serum, Biocontrol N and P Bioclin Kits.

Mark three test tubes: B (Blank), A (Sample), P (Standard), and proceed as follows:

|                                                         | Blank  | Standard | Sample |
|---------------------------------------------------------|--------|----------|--------|
| Reagent Nº1                                             | 50 µL  | 50 µL    | 50 µL  |
| Reagent Nº2                                             | 500 µL | 500 µL   | 500 µL |
| Reagent Nº4                                             | --     | 50 µL    | --     |
| Incubate at 37°C for 2 minutes.                         |        |          |        |
| Sample                                                  | --     | --       | 50 µL  |
| Homogenize and Incubate at 37°C for exactly 10 minutes. |        |          |        |
| Reagent Nº3                                             | 2,0 mL | 2,0 mL   | 2,0 mL |

Homogenize well and determine the absorbance of sample and Standard at 578 nm (570-590), correcting the zero with the blank. The color is stable for 60 minutes.

CALCULATIONS

Alkaline Phosphatase =  $\frac{\text{Sample Absorbance}}{\text{Standard Absorbance}} \times 40$  (U/L)

As the reaction follows the Beer-Lambert Law, the calibration factor can be used.

Calibration =  $\frac{\text{Standard Concentration (40 U/L)}}{\text{Factor}} \times \text{Standard Absorbance}$

U/L = Sample Absorbance x Calibration Factor

Results are expressed in U/L.

PROCEDURE LIMITATIONS

This methodology can not be adapted for use in automation equipment.

INTERFERENCES

Do not use hemolyzed or lipemic samples, because such samples can falsely elevate the results.

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.

REFERENCE VALUES

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



Adults: 12 to 43 U/L

Children up to 12 years of age: 56 to 156 U/L

These values should be used as guidance, and each laboratory should establish its range of reference values, according to the population served.

## PRODUCT PERFORMANCE

### QUALITY CONTROL

#### Accuracy

#### COMPARISON OF METHODS AND METHODOLOGICAL SPECIFICITY

The Alkaline Phosphatase was compared with other commercially available methods of measurement of phosphatase. For this test, We analyzed seven (07) clinical samples. The obtained results allow the construction of a linear equation  $Y = 1,009X - 0,117$ , with correlation coefficient equal 0,999. With these results, we can conclude that the kit presents good methodological specificity.

#### Precision

#### REPEATABILITY

The repeatability was calculated from 20 successive determinations, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

|                                     | Sample 1 | Sample 2 | Sample 3 |
|-------------------------------------|----------|----------|----------|
| <b>Average Concentration (U/L)</b>  | 17,35    | 41,55    | 101,60   |
| <b>Standard Deviation (U/L)</b>     | 0,75     | 0,76     | 0,75     |
| <b>Coefficient of Variation (%)</b> | 4,29     | 1,83     | 0,74     |

#### REPRODUCIBILITY

The reproducibility was calculated from 20 successive determinations for 3 consecutive days, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

|                                     | Sample 1 | Sample 2 | Sample 3 |
|-------------------------------------|----------|----------|----------|
| <b>Average Concentration (U/L)</b>  | 17,60    | 41,38    | 101,32   |
| <b>Standard Deviation (U/L)</b>     | 0,22     | 0,14     | 0,25     |
| <b>Coefficient of Variation (%)</b> | 1,24     | 0,35     | 0,24     |

#### Sensitivity

The sensitivity indicates the detection limit of the method. It was calculated from twenty (20) determinations of phosphatase, a sample absent of analytical. An average value of 0,419 U/L, with standard deviation of 0,004 U/L. The sensitivity corresponds to the sum of the average found with three times the standard deviations: 0,429 U/L.

#### Linearity

The reaction is linear up to 500 U/L. For samples with higher values dilute the serum using Sodium Chloride 0,85%, repeat the dosage and multiply the result by the dilution factor.

#### DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

The Alkaline Phosphatase is present in high concentrations in bones, liver, intestine and placenta. Constitutes a useful indicator of liver and bone diseases associated osteoblastic hyperactivity.

Conditions in which Alkaline Phosphatase is increased: in liver diseases and biliary tract in metastasis liver and bone metastasis, in acromegaly, in hyperthyroidism in rickets in infectious mononucleosis, Paget's disease (osteoblastic activity) and physiological bone growth.

Decreased values of Alkaline Phosphatase can be observed in hypothyroidism, growth retardation in children, hypophosphatasia (inborn metabolic error), serious malnutrition.

#### NUMBER OF TESTS

100 tests / 50  $\mu$ L of sample / 2,5 mL of Reagent

200 tests / 25  $\mu$ L of sample / 1,25 mL of Reagent

#### BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

1 - COLEMAN, C. M.; STROJE, R. C.: Clin. Chem. Acta 13: 401, 1966.

2 - ROY, A. V.: Clin. Chem. 16:431, 1970.

3 - ZAK, B.: Clin Chim. Acta 3: 328, 1958.

4 - BRITTENHAM, G.: Clin Chim. Acta. 91: 203, 1979.

5 - TONKS, D. B.: Chim. Acta 2: 393, 1983.

6 - CARL, A. B. and EDWARD, R. A.: Tietz Textbook of Clinical Chem 2nd ed., 1994, 1942-1943.

#### 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.

#### QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca

CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil

Phone.: +55 (31) 3439.5454 - Fax: +55 (31) 3439.5455

E-mail: bioclin@bioclin.com.br

CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Made in Brazil

#### **OBELIS S.A.**

Bd. Général Wahis, 53  
1030 Brussels, Belgium

#### CUSTOMER SERVICE

Customer Advisory Service

Phone.: 0800 0315454.

E-mail: sac@bioclin.com.br

ANVISA registration for Alkaline Phosphatase Kit:  
10269360104.

**Review:** July/2017

## UNIVERSAL SYMBOLOGY



CATALOG NUMBER



BATCH CODE



DATE OF MANUFACTURE



USED BY  
(last day of month)



TEMPERATURE LIMITATION  
(store at)



CONTAINS SUFFICIENT  
FOR <N> TESTS



CONSULT INSTRUCTIONS  
FOR USE



IN VITRO DIAGNOSTIC DEVICE



EUROPEAN AUTHORIZED  
REPRESENTATIVE



KEEP AWAY  
FROM SUNLIGHT



MANUFACTURED BY



CONTROL



POSITIVE CONTROL



NEGATIVE CONTROL



BIOLOGICAL RISK



INFLAMMABLE



CORROSIVE



POISON



CE MARK



DO NOT USE IF  
PACKAGE IS  
DAMAGED