

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 N° 1	Reagente N° 2
K224-2-VET	2 x 40 mL	2 x 10 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Espectrofotômetro termostaticado, 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 5 dias. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

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, agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados.
- É importante, para o bom desempenho do teste, um rigoroso controle de tempo e temperatura.
- 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 FDS (Ficha com Dados de Segurança) 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 7 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 até 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 N° 1 com uma (1) parte do Reagente N° 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 termostaticada 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 termostaticada 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

ALP (U/L) = Abs/min. x 2757
Os resultados serão expressos em U/L.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

O método cinético baseia-se na absorvidade 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 termostaticada

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.

Os anticoagulantes EDTA, citrato e oxalato devem ser evitados.

A utilização de drogas anticonvulsivantes (fenobarbital e primidona) e corticosteróides podem afetar a atividade da FA.

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 absorvidade molar do p-Nitrofenol, ou através do calibrador Biocal. A Bioclin recomenda o uso do calibrador Biocal, que também é rastreável à absorvidade molar do p-Nitrofenol.

VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores de referência foram determinados em amostras de soro de cães, gatos, bovinos e equinos saudáveis, machos e fêmeas, adultos e sem predileção por.

Espécie	Valor de Referência
Cão	15 - 124,6 U/L
Gato	14,5 - 96 U/L
Bovino	28,3 - 114,6 U/L
Equino	74,6 - 406 U/L

Estes valores devem ser usados como orientação e cada laboratório deverá estabelecer o seu próprio valor de referência, de acordo com a população atendida. Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional Médico Veterinário, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

PARA OBTER AS INSTRUÇÕES DE USO EM FORMATO IMPRESSO, SEM CUSTO ADICIONAL, CONTATAR O SERVIÇO DE ACESSORIA AO CLIENTE:

SAC: (31) 3439 5454 / 0800 031 5454 / sac@bioclin.com.br

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:

Repetibilidade	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
Coefficiente de Variação (%)	1,14	1,22	0,78

Reprodutibilidade

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

Reprodutibilidade	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
Coefficiente 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 (FA) está presente em altas concentrações nos ossos, fígado, intestino, rins e placenta. A elevação da concentração desta enzima está associada a colestase, aumento de atividade

osteoblástica não osteolítica e por esteroides (na espécie canina). Nos felinos, o aumento da FA ocorre em situações similares ao que ocorre no cão (hepatopatias, colangites e colangiohepatites, obstruções do ducto biliar e tumores). No entanto, nos gatos a elevação desta enzima ocorre de forma menos acentuada e por períodos mais curtos, devido à menor quantidade de FA nos hepatócitos desta espécie. Em bovinos e equinos, a FA possui menor especificidade e, geralmente, outras enzimas, como a bilirrubina, se elevam de forma mais precoce em caso de colestase.

Condições fisiológicas em que pode ocorrer o aumento não patológico da fosfatase alcalina incluem: Idade (animais jovens pode ter a FA até 10 vezes maior do que a um animal adulto), Raças (cães da raça Huskie Siberiano e Terrier Escocês são predispostos a hiperfosfatemia benigna, atingindo até 700 U/L) e Estresse.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - International Federation of Clinical Chemistry (1978). Section N° 2. Provisional recommendations on the theory of reference values. Part. I. The concept of reference values. Expert panel on the Theory of Reference Values – Clin. Chim. Acta 87/3: 459F (1978).
- 2 - Spandrio, L. et al – Considerazioni sulla determinazione della fosfatasi alcalina del siero com método cinético – LAB2/2:123 (1975).
- 3 - 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).
- 4 - Demaria, I; Setta, F.; Lorenzo, L. – VIII Congreso Argentino de Bioquímica, Octubre 1990 – Revista de la Asociación Bioquímica Argentina 54/3 (1990).
- 5 - Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. San Diego: Academic Express, 6. ed., 1998. 936 p.
- 6 - EClinPahth. Cornell University College of veterinary Medicine. 2013.
- 7 - Burtis, C. A., Ashwood, E. R., & Bruns, D. E. (2008). Tietz fundamentos de química clínica. B. G. Sawyer (Ed.). Rio de Janeiro: Elsevier.
- 8 - Nestor DD, Holan KM, Johnson CA, Schall W, Kaneene JB. (2006). Serum alkaline phosphatase activity in Scottish Terriers versus dogs of other breeds. Journal of the American Veterinary Medical Association, 228(2), 222–224.
- 9 - Lawler DF, Keltner DG, Hoffman WE, et al. Benign familial hyperphosphatemia in Siberian Huskies. Am J Vet Res 1996;57:612–617.

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 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

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

Número de Registro: Produto isento de registro no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Responsável Técnico: Dra. Camila Eckstein (CRMV/MG 20.611)

Revisão: Junho/2025

SIMBOLOGIA UNIVERSAL

	NÚMERO DE CATÁLOGO		FABRICADO POR
	NÚMERO DO LOTE		CONTROLE
	DATA DE FABRICAÇÃO		CONTROLE POSITIVO
	DATA DE VALIDADE (último dia do mês)		CONTROLE NEGATIVO
	LIMITE DE TEMPERATURA (conservar a)		RISCO BIOLÓGICO
	O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTE		INFLÂMÁVEL
	CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO		CORROSIVO
	PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DA LUZ E CALOR		NÃO UTILIZAR SE A EMBALAGEM ESTIVER DANIFICADA
	NÃO REUTILIZE		PRODUTO ESTERELIZADO
	CUIDADO		PERIGO

FOSFATASA 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
K224-2-VET	2 x 40 mL	2 x 10 mL

EQUIPAMIENTO E INSUMOS OPERACIONALES

Espectrofotómetro 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 5 días. Mantener cubierta de la luz y evitar humedad. **No congelar.**

CUIDADOS ESPECIALES

- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro* profesional.**
- Seguir con rigor la metodología propuesta para obtención de resultados exactos.
- El agua utilizada en la limpieza del material debe ser reciente e exenta de agentes contaminantes.
- Columnas deionizadoras saturadas liberan agua alcalina, iones diversos, agentes oxidantes y reductores, que pueden alterar de forma significativa los resultados.
- 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 FDS (Ficha de Datos de Seguridad) 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 7 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 hasta 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 en 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.

Adicionar 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 simultáneamente el cronómetro. 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

ALP (U/L) = Abs/min. x 2757

Los resultados serán expresos en U/L.

LIMITACIONES DEL PROCESO

El método cinético basease en la absorbtividad molar. Por

USO VETERINARIO

PARA OBTENER LAS INSTRUCCIONES DE USO EN FORMATO IMPRESO, SIN COSTO ADICIONAL, CONTACTE CON EL SERVICIO DE ASESORAMIENTO AL CLIENTE:

SAC: +55 (31) 3439 5454 / 0800 031 5454 / sac@bioclin.com.br

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 ser falsamente altos.

Deben evitarse los anticoagulantes EDTA, citrato y oxalato.

El uso de medicamentos anticonvulsivos (fenobarbital y primidona) y corticosteroides puede afectar la actividad de la FA.

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 se determinaron muetsras de suero en perros, gatos, bovinos y equinos sanos, machos y hembras, adultos sin predilección de raza.

Especie	Valor de referencia
Perro	15 - 124,6 U/L
Gato	14,5 - 96 U/L
Bovino	28,3 - 114,6 U/L
Caballo	74,6 - 406 U/L

Estos valores deben ser utilizados como guía y cada laboratorio debe establecer su propio valor de referencia, de acuerdo a la población atendida. Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico veterinario, y no son el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

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:

Repetibilidad	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Concentración Promedio (U/L)	153,1	145,9	327,9
Desvío Patrón (U/L)	1,7	1,8	2,6
Coefficiente 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:

Reproductibilidad	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Concentración Promedio (U/L)	154,5	147,4	328,9
Desvío Patrón (U/L)	1,7	1,4	0,9
Coefficiente de Variación (%)	1,13	0,92	0,26

SENSIBILIDAD

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

LINEARIDAD

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 (AP) está presente en altas concentraciones en huesos, hígado, intestino, riñones y placenta. El aumento de la concentración de esta enzima se asocia a colestasis, aumento de la actividad

osteoblástica no osteolítica y por esteroides (en la especie canina). En felinos, el aumento de FA ocurre en situaciones similares a lo que ocurre en perros (enfermedades hepáticas, colangitis y colangiohepatitis, obstrucciones de vías biliares y tumores), sin embargo, en gatos la elevación de esta enzima ocurre de manera menos marcada y por periodos más cortos, debido a la menor cantidad de FA en los hepatocitos de esta especie. En bovinos y equinos, la AF tiene menor especificidad y, en general, otras enzimas como la bilirrubina se elevan antes en el caso de la colestasis.

Las condiciones fisiológicas en las que puede ocurrir un aumento no patológico de la fosfatasa alcalina incluyen: Edad (los animales jóvenes pueden tener FA hasta 10 veces la de un animal adulto), Razas (los perros Siberian Huskie y Scottish Terrier están predispuestos a la hiperfosfatemia benigniana, llegando hasta a 700 U/L) y Estrés.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 - International Federation of Clinical Chemistry (1978). Section N° 2. Provisional recommendations on the theory of reference values. Part. I. The concept of reference values. Expert panel on the Theory of Reference Values – Clin. Chim. Acta 87/3: 459F (1978).
- 2 - Spandrio, L. et al – Considerazioni sulla determinazione della fosfatasi alcalina del siero con método cinético – LAB2/2:123 (1975).
- 3 - 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).
- 4 - Demaría, I; Setta, F.; Lorenzo, L. – VIII Congreso Argentino de Bioquímica, Octubre 1990 – Revista de la Asociación Bioquímica Argentina 54/3 (1990).
- 5 - Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. San Diego: Academic Express, 6. ed., 1998. 936 p.
- 6 - EClinPath. Cornell University College of veterinary Medicine. 2013.
- 7 - Burtis, C. A., Ashwood, E. R., & Bruns, D. E. (2008). Tietz fundamentos de química clínica. B. G. Sawyer (Ed.). Rio de Janeiro: Elsevier.
- 8 - Nestor DD, Holan KM, Johnson CA, Schall W, Kaneene JB. (2006). Serum alkaline phosphatase activity in Scottish Terriers versus dogs of other breeds. Journal of the American Veterinary Medical Association, 228(2), 222–224.
- 9 - Lawler DF, Keltner DG, Hoffman WE, et al. Benign familial hyperphosphatemia in Siberian Huskies. Am J Vet Res 1996;57:612–617.

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 están 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 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Industria Brasileira

ATENCIÓN AL CONSUMIDOR

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

Número de Registro: Producto exento de registro ante el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Abastecimiento.

Responsable Técnico: Dra. Camila Eckstein (CRMV/MG 20.611)

Revisión: Junio/2025

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

	NUMERO DE CATALOGO		FABRICADO POR
	NUMERO DE LOTE		CONTROLAR
	FECHA DE FABRICACIÓN		CONTROL POSITIVO
	FECHA DE VALIDEZ (último día del mes)		CONTROL NEGATIVO
	LÍMITE DE TEMPERATURA (tienda)		RIESGO BIOLÓGICO
	EL CONTENIDO ES SUFICIENTE PARA <N> PRUEBA		INFLAMABLE
	VER INSTRUCCIONES DE USO		CORROSIVO
	PRODUCTO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DE LUZ Y CALOR		NO UTILICE SI EL EMBALAJE ESTÁ DAÑADA
	NO REUTILIZA		PRODUCTO ESTERILIZADO
	PRECAUCIÓN		PELIGRO

ALKALINE PHOSPHATASE IFCC

REF **K224**

INSTRUCTIONS FOR USE

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
K224-2-VET	2 x 40 mL	2 x 10 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 5 days. 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 SDS (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 7 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 up to 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

ALP (U/L) = Abs/min. x 2757

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%

1 cm thermostated cuvette.

INTERFERENCES

Do not use hemolyzed or lipemic samples, as the results obtained may be falsely high.

EDTA, citrate and oxalate anticoagulants should be avoided.

The use of anticonvulsant drugs (phenobarbital and primidone) and corticosteroids can affect AF 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 were determined in serum samples of healthy dogs, cats, cattle and horses, males and females, adults without predilaction of breed.

Specie	Reference Value
Dog	15 - 124.6 U/L
Cat	14.5 - 96 U/L
Cattle	28.3 - 114.6 U/L
Horses	74.6 - 406 U/L

These values should be used as a guideline and each laboratory should establish its own reference value, according to the population served. The results provided by this kit must be interpreted by the veterinary medical professional, and are not the only criterion for determining the diagnosis and/or treatment of the patient.

VETERINARY USE

TO OBTAIN THE INSTRUCTIONS FOR USE IN PRINTED FORMAT, AT NO ADDITIONAL COST, CONTACT CUSTOMER ADVISORY SERVICE:

SAC: +55 (31) 3439 5454 / 0800 031 5454 / sac@bioclin.com.br

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:

Repeatability	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:

Reproducibility	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 recommend diluting the sample with NaCl 0.85%. Multiply the results obtained by the dilution factor.

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

Alkaline Phosphatase (AP) is present in high concentrations in bones, liver, intestine, kidneys and placenta. The increase in the concentration of this enzyme is associated with cholestasis, increase in non-osteolytic and steroid osteoblastic activity (in the canine species). In felines, the increase in FA occurs in situations similar

to what occurs in dogs (liver diseases, cholangitis and cholangiohepatitis, bile duct obstructions and tumors), however, in cats the elevation of this enzyme occurs less markedly and for shorter periods, due to the lower amount of FA in the hepatocytes of this species. In cattle and horses, FA has lower specificity and generally other enzymes such as bilirubin are elevated earlier in the case of cholestasis.

Physiological conditions in which a non-pathological increase in alkaline phosphatase can occur include: Age (young animals can have AF up to 10 times that of an adult animal), Breeds (Siberian Huskie and Scottish Terrier dogs are predisposed to Beningian hyperphosphatemia, reaching up to 700 U/L) and Stress.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

- 1 - International Federation of Clinical Chemistry (1978). Section N° 2. Provisional recommendations on the theory of reference values. Part. I. The concept of reference values. Expert panel on the Theory of Reference Values – Clin. Chim. Acta 87/3: 459F (1978).
- 2 - Spandrio, L. et al – Considerazioni sulla determinazione della fosfatasi alcalina del siero con método cinético – LAB2/2:123 (1975).
- 3 - 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).
- 4 - Demaría, I; Setta, F.; Lorenzo, L. – VIII Congreso Argentino de Bioquímica, Octubre 1990 – Revista de la Asociación Bioquímica Argentina 54/3 (1990).
- 5 - Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. San Diego: Academic Express, 6. ed., 1998. 936 p.
- 6 - EClinPahth. Cornell University College of veterinary Medicine. 2013.
- 7 - Burtis, C. A., Ashwood, E. R., & Bruns, D. E. (2008). Tietz fundamentos de química clínica. B. G. Sawyer (Ed.). Rio de Janeiro: Elsevier.
- 8 - Nestor DD, Holan KM, Johnson CA, Schall W, Kaneene JB. (2006). Serum alkaline phosphatase activity in Scottish Terriers versus dogs of other breeds. Journal of the American Veterinary Medical Association, 228(2), 222–224.
- 9 - Lawler DF, Keltner DG, Hoffman WE, et al. Benign familial hyperphosphatemia in Siberian Huskies. Am J Vet Res 1996;57:612–617.

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 | 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

Registration Number: Product exempt from registration with the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply.

Technical Responsible: Dr. Camila Eckstein (CRMV/ MG 20.611)

Review: June/2025

UNIVERSAL SYMBOLOLOGY

