

Fosfatase Alcalina – IFCC VET

Alkaline Phosphatase – IFCC Vet /
Fosfatasa Alcalina – IFCC VET

Responsável Técnico:
Dr. Gilson Sérgio Pizzo
CRF MG – 5310

Ref. 90.067.00

FINALIDADE

Kit destinado à determinação quantitativa da fosfatase alcalina no soro e plasma heparina. Uso em diagnóstico veterinário *in vitro*.

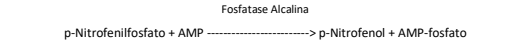
CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO, MANUSEIO E PREPARO DO PRODUTO

- Conservar de 2 a 8 °C, permanecendo fora da temperatura especificada somente o tempo necessário para a realização dos testes. Manter ao abrigo da luz.
- Após aberto, o produto em uso é estável até a validade impressa no rótulo, desde que seguidas a condições de armazenamento recomendadas (2 a 8 °C).
- Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.
- Reagentes prontos para uso. Os reagentes também podem ser usados no modo mono reagente, utilizando o Reagente de Trabalho.
- Reagente de Trabalho (RT):** misturar na proporção de 1 parte de R1 + 1 parte de R2. Homogeneizar suavemente. O reagente de trabalho é estável por 14 dias, desde que seguidas as condições de preparo e armazenamento recomendadas (2 a 8 °C).

PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO

Método: Cinético / IFCC adaptado

A determinação está baseada em um método cinético e colorimétrico, em que a Fosfatase Alcalina da amostra, em meio alcalino, hidrolisa o p-nitrofenilfosfato presente no reagente, liberando p-nitrofenol e fosfato inorgânico. A concentração de p-nitrofenol, mensurada a 405 nm, é diretamente proporcional à atividade enzimática da fosfatase alcalina na amostra.



AMOSTRAS: TIPO, COLETA, MANUSEIO E PRESERVAÇÃO

Tipo de Amostra: soro e plasma heparina.

Coleta e Manuseio: realizar a coleta da amostra conforme as Boas Práticas de Laboratório Clínico. Todas as amostras devem ser tratadas como material biológico potencialmente infeccioso.

Preservação:

| | Temperatura | Período de Estabilidade |
|---------------|-------------|-------------------------|
| Soro e Plasma | 4 a 8 °C | 7 dias |
| | -20 °C | 2 meses |

DESCRIÇÃO DO PRODUTO

| | | |
|------------|---|----------|
| R 1 | Tampão, ativadores, 2-amino-2-metil-1-propanol < 800 mmol/L | |
| R 2 | p-Nitrofenilfosfato < 50 mmol/L, conservante | X |

CONTROLE DE QUALIDADE

O uso de controles deve ser prática rotineira no laboratório. Para Calibração e Controle Interno de Qualidade Laboratorial, recomenda-se o uso do calibrador e dos controles abaixo:

| | | |
|-------------------------------------|------------|-----------|
| Calibrador - Autocal Vet | REF | 90.039.00 |
| Controle Normal – Quantinorm Vet | | 90.040.00 |
| Controle Patológico – Quantialt Vet | | 90.041.00 |

MATERIAL NECESSÁRIO PARA REALIZAÇÃO DO ENSAIO

- Espectrofotômetro ou fotômetro para leitura em 405 nm (390 – 425 nm).
- Banho de água termostatizado a 37 °C e tubos de ensaio.
- Pipetas de vidro e/ou automáticas, relógio ou cronômetro.

PROCEDIMENTO DE ENSAIO, CÁLCULOS E INTERPRETAÇÃO

A) PROCEDIMENTO DE ENSAIO

1. Pipetar em tubos de ensaio:

| | Protocolo Birreagente | | | Protocolo Monorreagente | | |
|----------------------------------|-----------------------|------------|---------|-------------------------|------------|---------|
| | Branco | Calibrador | Amostra | Branco | Calibrador | Amostra |
| R1 | 500 µL | 500 µL | 500 µL | RT | 1000 µL | 1000 µL |
| Incubar a 37 °C por 180 segundos | | | | | | |
| R2 | 500 µL | 500 µL | 500 µL | CAL | - | 25 µL |
| CAL | - | 25 µL | - | Amostra | - | 25 µL |
| Amostra | - | - | 25 µL | | | |

- Homogeneizar e incubar os tubos de reação a 37 °C por 54 segundos;
- Imediatamente após a incubação, medir a absorbância inicial (A₀) de cada reação a 405 nm;
- Efetuar novas leituras a cada 60 segundos (A₁ e A₂).

B) CÁLCULOS

Fosfatase Alcalina (U/L) = Fator de Calibração * [(ΔA_{amostra}/min) – (ΔA_{branco}/min)]

Em que:

$$\Delta A / \text{min} = \frac{(A_1 - A_0) + (A_2 - A_1)}{2}$$

Fator de Calibração = $\frac{\text{Concentração do Calibrador (U/L)}}{\Delta A_{\text{calibrador}} / \text{min} - \Delta A_{\text{branco}} / \text{min}}$

Exemplo:

| Leitura de Absorbância | Branco | Calibrador | Amostra |
|------------------------|--------|------------|---------|
| A ₀ | 0,361 | 0,623 | 0,443 |
| A ₁ | 0,378 | 0,730 | 0,494 |
| A ₂ | 0,383 | 0,834 | 0,542 |

$$\Delta A_{\text{branco}} / \text{min} = \frac{(0,378 - 0,361) + (0,383 - 0,378)}{2} = 0,011$$

$$\Delta A_{\text{calibrador}} / \text{min} = \frac{(0,730 - 0,623) + (0,834 - 0,730)}{2} = 0,106$$

$$\Delta A_{\text{amostra}} / \text{min} = \frac{(0,494 - 0,443) + (0,542 - 0,494)}{2} = 0,050$$

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{254,6}{0,106 - 0,011} = 2680$$

Fosfatase Alcalina (U/L) = 2680 * (0,050 – 0,011) = 104,52 U/L

Automação: Este procedimento pode ser aplicado na maioria dos analisadores automatizados. Os protocolos estão disponíveis em www.biotecnica.ind.br.

C) INTERPRETAÇÃO

A Fosfatase Alcalina está presente no organismo em membranas e superfícies celulares localizados na mucosa do intestino delgado e nos túbulos contorcidos proximais do rim, no osso (osteoblastos), no fígado e na placenta, sendo importante para detecção de doenças hepatobiliares. Os felinos têm uma menor quantidade da enzima, e ela é rapidamente eliminada pelos rins. Em cães, a hepatopatia, que causa aumento da fosfatase alcalina, cursa com colestase. A indução por corticoides, pode aumentar os níveis de FA. Em cavalos e ruminantes, devido aos amplos intervalos de referência de FA nessas espécies, sua variação é de pouca importância em doenças hepáticas. Também pode estar aumentada em casos de osteomalácia, cicatrização de fraturas, deficiência de vitamina D, hiperparatireoidismo, tumor ósseo, raquitismo, hiperadrenocorticismo, gestação e retenção de placenta. Além dos corticoides, drogas como os barbitúricos, cefalosporinas, fenobarbital, fenotiazinas, fenilbutazona, tetraciclina, tiabendazol e halotano induzem o aumento da fosfatase alcalina. FA de origem óssea pode estar aumentada em animais jovens, ou nos casos de hiperparatireoidismo, osteossarcoma, em consolidação de fraturas, osteomalácia ou na deficiência de vitamina D. Os animais castrados apresentam uma maior atividade da enzima do que os inteiros.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

| Intervalo Operacional |
|-------------------------|
| 2,45 a 1823,56 U/L |
| Sensibilidade |
| Limite de Quantificação |
| 2,45 U/L |

Para valores acima do intervalo operacional, diluir a amostra com NaCl 150 mM (0,9%), realizar nova dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

| Espécies | Especificidade Analítica | | |
|----------|--------------------------|-------------|---------------|
| | Hemoglobina | Bilirrubina | Triglicérides |
| Caninos | 300 mg/dL | 40 mg/dL | 750 mg/dL |
| Felinos | 500 mg/dL | 40 mg/dL | 750 mg/dL |
| Equinos | 200 mg/dL | 30 mg/dL | 2000 mg/dL |
| Bovinos | 500 mg/dL | 40 mg/dL | 2000 mg/dL |

Concentrações de substâncias interferentes até os valores apresentados acima não causam alterações significativas nos resultados. Para medicamentos, consultar a referência bibliográfica recomendada (Young, 2000).

| Exatidão - Caninos | |
|--------------------------------|--------------------|
| Número de Amostras | 40 em duplicata |
| Equação de Regressão | y = 0,998x – 0,255 |
| Coefficiente de Correlação (R) | 1,0000 |
| Exatidão - Felinos | |
| Número de Amostras | 20 em duplicata |
| Equação de Regressão | y = 0,990x + 0,705 |
| Coefficiente de Correlação (R) | 0,9999 |
| Exatidão - Equinos | |

| Número de Amostras | 11 em duplicata |
|--------------------------------|---------------------|
| Equação de Regressão | y = 1,002x – 3,087 |
| Coefficiente de Correlação (R) | 0,9972 |
| Exatidão - Bovinos | |
| Número de Amostras | 10 em duplicata |
| Equação de Regressão | y = 1,032x – 0,4286 |
| Coefficiente de Correlação (R) | 0,9993 |

Precisão:

Os estudos foram realizados em duas corridas e em 20 replicatas

| Amostras (U/L) | Número de amostras | Precisão Intra-ensaio | | Amostras (U/L) | Número de amostras | Precisão Inter-ensaio | |
|----------------|--------------------|-----------------------|--------|----------------|--------------------|-----------------------|--------|
| | | SD (U/L) | CV (%) | | | SD (U/L) | CV (%) |
| 146,24 | 20 | 6,79 | 4,60 | 143,40 | 40 | 6,70 | 4,70 |
| 482,19 | 20 | 12,34 | 2,60 | 482,48 | 40 | 11,98 | 2,50 |

%CV: Coeficiente de variação expresso em porcentagem; SD: Desvio Padrão

RISCOS RESIDUAIS, CUIDADOS E PRECAUÇÕES

- Utilizar os EPI's e realizar os procedimentos de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico.
- Seguir os requisitos preconizados nas Boas Práticas de Laboratório Clínico para a água utilizada no laboratório.
- Não misturar reagentes de lotes diferentes ou trocar as tampas dos frascos, a fim de evitar contaminação cruzada. Não usar o reagente quando ele apresentar característica visual em desacordo com o especificado na FISPQ do produto.
- Evite deixar os reagentes fora das condições de armazenamento especificadas.
- O nível de água do banho-maria deve ser superior ao dos tubos de ensaio que contém as reações.

INTERVALO DE REFERÊNCIA

| Espécies | Intervalo de Referência |
|----------|-------------------------|
| Caninos | 20,0 – 156,0 U/L |
| Felinos | 25,0 – 93,0 U/L |
| Equinos | 143,0 – 395,0 U/L |
| Bovinos | 0,0 – 488,0 U/L |

Estes valores são unicamente para orientação, sendo recomendável que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

ALERTAS E PRECAUÇÕES COM RELAÇÃO AO DESCARTE DO PRODUTO

- As informações de Descarte, Segurança e Primeiros Socorros estão descritas na Ficha Individual de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) deste produto, disponível em www.biotecnica.ind.br ou pelo telefone + 55 35 3214-4646.
- Descartar os resíduos das reações de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico e Programa de Gerenciamento de Resíduos de Serviço de Saúde (PGRSS)

GARANTIA DE QUALIDADE / SAC - SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Os produtos Biotécnica são produzidos conforme as diretrizes das Boas Práticas de Fabricação e demais regulamentações sanitárias vigentes. Seu desempenho é assegurado desde que seguidas as instruções da Biotécnica. Em caso de dúvida na utilização do produto, entre em contato com a Assessoria Científica Biotécnica através do telefone +55 35 3214 4646 ou pelo email sac@biotecnicaltda.com.br

ENGLISH

INTENDED USE

Kit for the quantitative determination of the enzymatic activity of Alkaline Phosphatase in serum and plasma. Veterinary Diagnostic use only.

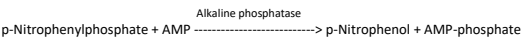
STORAGE AND HANDLING

- Store at 2 to 8 °C and protect from light. The product must remain out of the specified temperature only the time required for testing.
- Once opened, the product is stable until the expiration date printed on the label, as long as the recommended storage conditions (2 to 8 °C) are followed.
- Do not use reagents whose shelf life has expired.
- Reagents ready for use. The reagents can also be used as a Work Reagent.
- Work Ready:** mix in the proportion of 1 part of R1 + 1 part of R2. Homogenize gently. The work reagent is stable for 14 days, as long as the preparation instructions and the recommended storage conditions are followed (2 to 8 °C).

WORKING PRINCIPLE

Method: Kinetic / adapted IFCC

The determination is based on a kinetic and colorimetric method, in which the sample alkaline phosphatase, in an alkaline medium, hydrolyzes the p-nitrophenylphosphate present in the reagent, releasing p-nitrophenol and inorganic phosphate. The concentration of p-nitrophenol, measured at 405 nm, is directly proportional to the enzymatic activity of alkaline phosphatase in the sample.



SAMPLE: TYPE, COLLECTION, HANDLING AND STABILITY

Sample Type: serum and heparin plasma.

Collection, handling and preparation: collect the sample in accordance with the Good Laboratory Practices. All samples should be treated as potentially infectious material.

Preservation:

| | Temperature | Stability Period |
|------------------|-------------|------------------|
| Serum and Plasma | 4 a 8 °C | 7 days |
| | -20 °C | 2 months |

PRODUCT DESCRIPTION

| | | |
|------------|--|----------|
| R 1 | Buffer, ativadores, 2-Amino 2-Methyl-1-Propanol < 800 mmol/L | |
| R 2 | p-Nitrophenylphosphate < 50 mmol/L, preservative | X |

QUALITY CONTROL

The use of controls should be a routine practice in the laboratory. For the internal laboratorial quality control, it's recommended the use of the calibrator and controls below:

| | | |
|--------------------------------------|------------|-----------|
| Calibrator - Autocal Vet | REF | 90.039.00 |
| Normal Control – Quantinorm Vet | | 90.040.00 |
| Pathological Control – Quantialt Vet | | 90.041.00 |

NECESSARY EQUIPMENT FOR TESTING

- Spectrophotometer or photometer for reading at 405 nm (390 – 425 nm).
- Thermostatic water bath at 37 °C and test tubes.
- Glass pipettes and/or automatic, clock or chronometer.

TEST PROCEDURE, CALCULATION AND INTERPRETATION

A) TEST PROCEDURE

1. Pipette in the test tubes:

| | Bi-reactant protocol | | | Monoreagent Protocol | | |
|----------------------------------|----------------------|------------|--------|----------------------|------------|---------|
| | Blank | Calibrator | Sample | Blank | Calibrator | Sample |
| R1 | 500 µL | 500 µL | 500 µL | RT | 1000 µL | 1000 µL |
| Incubate at 37°C for 180 seconds | | | | | | |
| R2 | 500 µL | 500 µL | 500 µL | CAL | - | 25 µL |
| CAL | - | 25 µL | - | Sample | - | 25 µL |
| Sample | - | - | 25 µL | | | |

- Homogenize and incubate the reaction tubes at 37 °C for 54 seconds;
- Immediately after incubation, measure the initial absorbance (A₀) of each reaction at 405 nm;
- Take new readings every 60 seconds (A₁ and A₂).

B) CALCULATIONS

Alkaline phosphatase (U/L) = Calibration Factor * [(ΔA_{sample}/min) – (ΔA_{blank}/min)]

In what:

$$\Delta A / \text{min} = \frac{(A_1 - A_0) + (A_2 - A_1)}{2}$$

$$\text{Calibration Factor} = \frac{\text{Calibrator Concentration (U/L)}}{\Delta A_{\text{calibrador}} / \text{min} - \Delta A_{\text{blank}} / \text{min}}$$

Automation: this product is compatible to most types of automatic analyzers. Instrument settings are available at www.biotecnicaltda.ind.br

C) INTERPRETATION

Alkaline Phosphatase is present in the body in membranes and cell surfaces located in the mucosa of the small intestine and in the proximal convoluted tubules of the kidney, in bone (osteoblasts), in the liver and in the placenta, being important for the detection of hepatobiliary diseases. Cats have a lower amount of the enzyme, and it is quickly eliminated by the kidneys. In dogs, liver disease, which causes an increase in alkaline phosphatase, courses with cholestasis. Corticosteroid induction may increase AF levels. In horses and ruminants, due to the wide reference ranges of FA in these species, its variation is of little importance in liver diseases. It may also be increased in cases of osteomalacia, fracture healing, vitamin D deficiency, hyperparathyroidism, bone tumor, rickets, hyperadrenocorticoidism, pregnancy, and retained placenta. In addition to corticosteroids, drugs such as barbiturates, cephalosporins, phenobarbital, phenothiazines, phenylbutazone, tetracyclines, tiabendazole and halothane induce an increase in alkaline phosphatase. AF of bone origin may be increased in young animals, or in cases of hyperparathyroidism, osteosarcoma, in fracture healing, osteomalacia or vitamin D deficiency. Castrated animals have greater enzyme activity than intact animals.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

| Operating range |
|----------------------|
| 2.45 to 1823.56 U/L |
| Sensitivity |
| Quantification Limit |

For concentrations above the operating range, dilute the sample with NaCl 150 mM (0,9%), proceed with a new dosage and multiply the result by the dilution factor.

2.45 U/L

| Analytical Specificity | | | |
|------------------------|------------|-----------|---------------|
| Species | Hemoglobin | Bilirubin | Triglycerides |
| Canines | 300 mg/dL | 40 mg/dL | 750 mg/dL |
| Felinos | 500 mg/dL | 40 mg/dL | 750 mg/dL |
| Equinos | 200 mg/dL | 30 mg/dL | 2000 mg/dL |
| Bovinos | 500 mg/dL | 40 mg/dL | 2000 mg/dL |

Interfering substances up to the values presented above do not cause significant alterations in results. For drugs, consult the recommended reference (Young, 2000).

| Accuracy - Canines | |
|-----------------------------|---------------------|
| Number of Samples | 40 in duplicate |
| Regression Equation | y = 0.998x - 0.255 |
| Correlation Coefficient (R) | 1.0000 |
| Accuracy - Felinos | |
| Number of Samples | 20 in duplicate |
| Regression Equation | y = 0.990x + 0.705 |
| Correlation Coefficient (R) | 0.9999 |
| Accuracy - Equinos | |
| Number of Samples | 11 in duplicate |
| Regression Equation | y = 1.002x - 3.087 |
| Correlation Coefficient (R) | 0.9972 |
| Accuracy - Bovinos | |
| Number of Samples | 10 in duplicate |
| Regression Equation | y = 1.032x - 0.4286 |
| Correlation Coefficient (R) | 0.9993 |

Precision:

Determined with two runs and in 20 replicates

| Samples (U/L) | Number of samples | Within-Run Precision | | Samples (U/L) | Number of samples | Between-Run Precision | |
|---------------|-------------------|----------------------|--------|---------------|-------------------|-----------------------|--------|
| | | SD (U/L) | CV (%) | | | SD (U/L) | CV (%) |
| 146.24 | 20 | 6.79 | 4.60 | 143.40 | 40 | 6.70 | 4.70 |
| 482.19 | 20 | 12.34 | 2.60 | 482.48 | 40 | 11.98 | 2.50 |

%CV: Coefficient of Variation expressed as a percentage; SD: Standard Deviation

RESIDUAL RISKS, WARNINGS AND PRECAUTIONS

- Use Protective Equipment in accordance with the Good Laboratory Practices.
- Follow the Good Laboratory Practices' instructions to establish the quality of water.
- Do not mix reagents from different lots or exchange the caps from different reagents in order to avoid cross contamination. Do not use the reagent if it displays any signs in disagreement with the ones specified in the product MSDS.
- Avoid leaving reagents outside the specified storage conditions.
- The level of the water bath must be greater than that of the test tubes containing the reaction.

REFERENCE RANGES

| Species | 37 °C |
|---------|-------------------|
| Canine | 20.0 – 156.0 U/L |
| Feline | 25.0 – 93.0 U/L |
| Equine | 143.0 – 395.0 U/L |
| Bovine | 0.0 – 488.0 U/L |

These values are intended for orientation only. It is recommended that each laboratory establishes its own reference ranges.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- Discard the reactions surplus according to Good Laboratory Practice in a proper place for potentially infectious material.
- The information for Disposing, Security and First Aid are described in the Manual Safety Data Sheet (MSDS) of this product available at www.biotechnica.ind.br or calling for +55 35 3214 4646

QUALITY ASSURANCE / CUSTOMER TECHNICAL SERVICE

All Biotécnica products are made according to the Good Manufacturing Practices and other current sanitary regulations. Their performance is assured as long as all Biotécnica instructions are followed. In case of doubt while using the product, contact our Scientific Advisory team by calling +55 35 3214 4646, your local distributor or sending an e-mail to sac@biotechnicaltda.com.br.

ESPAÑOL

FINALIDAD

Kit destinado a la determinación cuantitativa de Fosfatasa Alcalina en suero y plasma. Uso en diagnóstico veterinario *in vitro*.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Conservar de 2 a 8 °C, permaneciendo fuera de la temperatura especificada solamente el tiempo necesario para la realización de los ensayos. Mantener al abrigo de la luz.

- Después de abierto, el producto es estable hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja desde que almacenados en las condiciones recomendadas (2 a 8 °C).
- No usar reactivos cuya fecha de vencimiento haya expirado.
- Reactivos listos para uso. Los reactivos también pueden ser usados como Reactivo de Trabajo.
- Reactivo de Trabajo (RT):** mezclar en la proporción de 1 parte de R1 + 1 parte de R2. Homogeneizar suavemente. El reactivo de trabajo es estable por 14 días, desde que seguidas las condiciones de preparación y almacenamiento recomendadas (2 a 8 °C).

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Método: Cinético / IFCC adaptado

La determinación se basa en un método cinético y colorimétrico, en el que la muestra de fosfatasa alcalina, en medio alcalino, hidroliza el p-nitrofenilfosfato presente en el reactivo, liberando p-nitrofenol y fosfato inorgánico. La concentración de p-nitrofenol, medida a 405 nm, es directamente proporcional a la actividad enzimática de la fosfatasa alcalina en la muestra.



MUESTRAS: TIPO, RECOLECCIÓN, MANIPULACIÓN, PREPARACIÓN Y CONSERVACIÓN

Tipo de Muestra: suero y plasma de heparina.

Recolección y manipulación: realizar la recolección de muestras de acuerdo con las Buenas Prácticas del Laboratorio Clínico. Todas las muestras deben ser tratadas como materiales potencialmente infectantes.

Conservación:

| | Temperatura | Período de Estabilidad |
|----------------|-------------|------------------------|
| Suero y Plasma | 4 a 8 °C | 7 días |
| | -20 °C | 2 meses |

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

| | | |
|------------|--|----------|
| R 1 | Tampón, activadores, 2-amino-2-metil-1-propanol < 800 mmol/L | |
| R 2 | p-Nitrofenilfosfato < 50 mmol/L, conservante | X |

CONTROL DE CALIDAD

El uso de controles debe ser práctica rutinaria en el laboratorio. Para calibración y Control Interno de Calidad del Laboratorio se recomienda utilizar el calibrador y los siguientes controles:

| | | |
|------------------------------------|------------|-----------|
| Calibrador - Autocal Vet | REF | 90.039.00 |
| Control Normal - Quantinorm Vet | | 90.040.00 |
| Control Patológico - Quantialt Vet | | 90.041.00 |

MATERIAL NECESARIO PARA REALIZAR EL ENSAYO

- Espectrofotómetro o fotómetro para lectura en 405 nm (390 – 425 nm).
- Baño de agua termostataizado a 37 °C y tubos de ensayo.
- Pipetas de vidrio y/o automáticas, reloj o cronómetro.

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO, CÁLCULOS E INTERPRETACIÓN

A) PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

1. Pipetear en tubos de ensayo:

| | Protocolo de bi-reactantes | | | Protocolo de monoreactivos | | |
|--------------------------------------|----------------------------|------------|---------|-------------------------------------|------------|---------|
| | Blanco | Calibrador | Muestra | Blanco | Calibrador | Muestra |
| R1 | 500 µL | 500 µL | 500 µL | RT | 1000 µL | 1000 µL |
| Incubar a 37 °C durante 180 segundos | | | | Incubar a 37°C durante 180 segundos | | |
| R2 | 500 µL | 500 µL | 500 µL | CAL | - | 25 µL |
| CAL | - | 25 µL | - | Amostra | - | 25 µL |
| Amostra | - | - | 25 µL | | | |

- Homogeneizar e incubar los tubos de reacción a 37 °C durante 54 segundos;
- Inmediatamente después de la incubación, mida la absorbancia inicial (A₀) de cada reacción a 405 nm;
- Tome nuevas lecturas cada 60 segundos (A₁ y A₂).

B) CÁLCULOS

Fosfatasa Alcalina (U/L) = Factor Calibración * [(ΔA_{muestra}/min) - (ΔA_{blanco}/min)]

En que:

$$\Delta A/\text{min} = \frac{(A_1 - A_0) + (A_2 - A_1)}{2}$$

$$\text{Factor de Calibración} = \frac{\text{Concentración del Calibrador (U/L)}}{\Delta A_{\text{calibrador}}/\text{min} - \Delta A_{\text{blanco}}/\text{min}}$$

Automación:

Este producto es automatizado en la mayoría de los analizadores. Los protocolos están disponibles en www.biotechnica.ind.br

C) INTERPRETACIÓN

La fosfatasa alcalina está presente en el cuerpo en membranas y superficies celulares ubicadas en la mucosa del intestino delgado y en los túbulos contorneados proximales del riñón, en los huesos (osteoblastos), en el hígado y en la placenta, siendo importante para

la detección de enfermedades hepatobiliares. Los gatos tienen una cantidad más baja de la enzima y se elimina rápidamente por los riñones. En los perros, la enfermedad hepática, que provoca un aumento de la fosfatasa alcalina, cursa con colestasis. La inducción de corticosteroides puede aumentar los niveles de FA. En equinos y ruminantes, debido a los amplios rangos de referencia de AF en estas especies, su variación es de poca importancia en enfermedades hepáticas. También puede aumentar en casos de osteomalacia, curación de fracturas, deficiencia de vitamina D, hiperparatiroidismo, tumor óseo, raquitismo, hiperadrenocorticismo, embarazo y retención de placenta. Además de los corticoides, fármacos como los barbitúricos, las cefalosporinas, el fenobarbital, las fenotiazinas, la fenilbutazona, las tetraciclínicas, el tiabendazol y el halotano inducen un aumento de la fosfatasa alcalina. La FA de origen óseo puede estar aumentada en animales jóvenes, o en casos de hiperparatiroidismo, osteosarcoma, en la curación de fracturas, osteomalacia o deficiencia de vitamina D. Los animales castrados tienen mayor actividad enzimática que los animales intactos.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

| Intervalo Operacional |
|-----------------------|
| 2,45 a 1823,56 U/L |

Para valores superiores al del intervalo operacional, diluir la muestra con NaCl 150 mM (0,9%), realizar nuevo ensayo y multiplicar el resultado por el factor de dilución.

| Sensibilidad |
|--------------------------|
| Límite de Cuantificación |
| 2,45 U/L |

| Especificidad analítica | | | |
|-------------------------|-------------|------------|---------------|
| Especies | Hemoglobina | Bilirubina | Triglicéridos |
| Caninos | 300 mg/dL | 40 mg/dL | 750 mg/dL |
| Felinos | 500 mg/dL | 40 mg/dL | 750 mg/dL |
| Equinos | 200 mg/dL | 30 mg/dL | 2000 mg/dL |
| Bovinos | 500 mg/dL | 40 mg/dL | 2000 mg/dL |

Concentraciones de sustancias interferentes hasta los valores presentados indicados anteriormente no provocan cambios significativos en los resultados. Para medicamentos, consultar la referencia recomendada (Young, 2000).

| Exactitud - Caninos | |
|---------------------------------|---------------------|
| Número de Muestras | 40 em duplicado |
| Ecuación de Regresión | y = 0,998x - 0,255 |
| Coefficiente de Correlación (R) | 1,0000 |
| Exactitud - Felinos | |
| Número de Muestras | 20 em duplicado |
| Ecuación de Regresión | y = 0,990x + 0,705 |
| Coefficiente de Correlación (R) | 0,9999 |
| Exactitud - Equinos | |
| Número de Muestras | 11 em duplicado |
| Ecuación de Regresión | y = 1,002x - 3,087 |
| Coefficiente de Correlación (R) | 0,9972 |
| Exactitud - Bovinos | |
| Número de Muestras | 10 em duplicado |
| Ecuación de Regresión | y = 1,032x - 0,4286 |
| Coefficiente de Correlación (R) | 0,9993 |

Precisión:

Los estudios de precisión intra-ensayo fueron realizados en 5 determinaciones por 10 días; los de precisión inter-ensayo fueron realizados en 3 condiciones, con 3 repeticiones por 5 días.

| Muestras (U/L) | Numero de muestra s | Precisión Intra-Ensayo | | Muestras (U/L) | Numero de muestra s | Precisión Inter-Ensayo | |
|----------------|---------------------|------------------------|--------|----------------|---------------------|------------------------|--------|
| | | SD (U/L) | CV (%) | | | SD (U/L) | CV (%) |
| 146,24 | 20 | 6,79 | 4,60 | 143,40 | 40 | 6,70 | 4,70 |
| 482,19 | 20 | 12,34 | 2,60 | 482,48 | 40 | 11,98 | 2,50 |

%CV: Coeficiente de variación expreso en porcentaje; SD: Desviación Estándar

RIESGOS RESIDUALES, CUIDADOS Y PRECAUCIONES

- Utilizar los EPI's de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio Clínico.
- Seguir los requisitos establecidos en las Buenas Prácticas de Laboratorio Clínico para el agua utilizada en el laboratorio.
- No mezclar reactivos de lotes diferentes o cambiar las tapas de los frascos, a fin de evitar contaminación cruzada. No usar el reactivo cuando presente característica visual en desacuerdo con lo especificado en la FISPQ del producto.
- Evitar dejar los reactivos fuera de las condiciones de almacenamiento especificadas.
- El nivel de agua del baño maría debe ser superior al de los tubos de ensayo que contienen las reacciones.

INTERVALO DE REFERENCIA

| Especies | Intervalo de Referéncia |
|----------|-------------------------|
|----------|-------------------------|

| | |
|---------|-------------------|
| Caninos | 20,0 – 156,0 U/L |
| Felinos | 25,0 – 93,0 U/L |
| Equinos | 143,0 – 395,0 U/L |
| Bovinos | 0,0 – 488,0 U/L |

Estos valores son únicamente para orientación, siendo recomendable que cada laboratorio establezca su propio intervalo de referencia.

ALERTAS Y PRECAUCIONES PARA EL DESCARTE DEL PRODUCTO

- Las informaciones de Descarte, Seguridad y Primeros Socorros están descritas en la Ficha Individual de Seguridad de Productos Químicos (FISPQ) de este producto, disponible en www.biotechnica.ind.br o por el teléfono +55 35 3214 4646.
- Desear las sobras de las reacciones de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio Clínico (BPLC) y Programa de Gestión de Residuos de Servicio de Salud (PGRSS).

GARANTIA DE CALIDAD / SAC - SERVICIO DE ASISTENCIA AL CLIENTE

Los reactivos Biotécnica son producidos de acuerdo con las Buenas Prácticas de Fabricación e otras regulaciones vigentes. Su desempeño es asegurado siempre que se siga las instrucciones de la Biotécnica. Cualquier duda en la utilización de este kit, entrar en contacto con la Asesoría Científica de la Biotécnica Ltda, a través del teléfono +55 35 3214 4646 o por el e mail sac@biotechnicaltda.com.br.

APRESENTACIONES / PRESENTACIONES / PRESENTACIONES

| | | |
|---|----------|------------------------|
| 1 | R1 R2 | 1 x 25 mL 1 x 25 mL |
|---|----------|------------------------|

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS/REFERENCES/REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- YOUNG, D.S. *Effects of drugs on clinical laboratory tests* - vol. 2, 5 ed. Washington DC: AACCC Press, 2000.
- WESTGARD, J. O. et al. A multi-rule shewhart chart quality control in clinical chemistry. *Clin. Chem.* v.27 p.493-501, 1981.
- KANEKO, Jiro J; HARVEY, John W; BRUSS, Michael L. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5th. ed. San Diego: Academic Press, c1997 932p.
- THRALL, Mary Anna. *Hematologia e bioquímica clínica veterinária*. São Paulo: Roca, 2007. 582 p.

TABELA DE SÍMBOLOS INTERNACIONAIS / TABLE OF INTERNATIONAL SYMBOLS / TABLA DE SÍMBOLOS INTERNACIONALES

| | | | |
|-------------|--|--------------------|---|
| | Consultar as instruções para utilização Consult instructions for use Consúltense las instrucciones de uso | | Descartar corretamente Dispose properly Desearchar adecuadamente |
| REF | Número de catálogo Catalog number Número de catálogo | R <N> | Reagente Reagent Reactivo |
| PART | Código do lote/Partida Batch code Código de lote | | Límite de temperatura Temperature limitation Límite de temperatura |
| CAL | Calibrador Calibrator Calibrador | CONTROL | Controle Control Control |
| IVD | Produto para a saúde para diagnóstico <i>in vitro</i> In Vitro Diagnostic medical device Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i> | | Data limite de utilização (último dia do mês) Use by (last day of the month) Estable hasta (ultimo día del mes) |
| | Risco biológico Biological risk Riesgo biológico | | Conteúdo suficiente para <n> testes Contains sufficient for <n> tests Contenido suficiente para <n> ensayos |
| FABR | Data de Fabricação Manufacturing Fabricación | X | Nocivo / Irritante Harmful / Irritant Nocivo / Irritante |
| STD | Padrão Standard Patrón | | |