

ALT IFCC com/sem activação por fosfato de piridoxal

● Indica os analisadores nos quais os kits podem ser utilizados

Ref.	Frasco	Conteúdo	704	717	737	747	902 912	904	911	914 P	917 D	MODULAR
851132	1	Tampão, 12 x 50 ml										
	1a	Enzima/coenzima, 1 x 24 comprimidos de reagente	●				●	●	●			
	2	α-Cetoglutarato, 3 x 44 ml										

Alguns dos analisadores podem não ser comercializados em todos os países. Para outras aplicações do sistema, contacte o seu representante local da Roche.

Produto registado no INFARMED

## ALT IFCC sem activação por fosfato de piridoxal

### Função

Teste para determinação quantitativa *in vitro* da alanina-amino-transferase (ALT) em soro e plasma humanos, utilizando analisadores automáticos de química clínica.

### Características<sup>1-4</sup>

A alanina-amino-transferase (glutamato-piruvato-transaminase) pertence ao grupo das transaminases que catalisam a interconversão dos aminoácidos e dos α-cetoácidos por transferência de grupos amina. Embora a maior parte da actividade se verifique no fígado, é também possível detectar uma actividade significativa nos rins, coração, musculatura esquelética, pâncreas, baço e tecido pulmonar.

Níveis elevados de transaminases podem indicar enfarte do miocárdio, hepatopatia, distrofia muscular e lesões orgânicas. Só muito raramente é que se observam aumentos séricos das actividades da ALT, salvo no caso da doença do parênquima hepático, dado que a ALT é um enzima mais específico do fígado do que o AST.

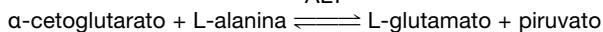
Em 1956, Wroblewski e LaDue descreveram a primeira determinação cinética da actividade de ALT no soro. Em 1977 e 1980, a International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) recomendou procedimentos padronizados para determinação da ALT, incluindo a optimização das concentrações de substrato, utilização de tampões TRIS\*, pré-incubação em simultâneo do tampão e do soro associados de modo a evitar a ocorrência de reacções secundárias com NADH, início com substrato e activação por fosfato de piridoxal. O método aqui descrito baseia-se no método de referência do IFCC.

\*TRIS = Tris(hidroximetil)-aminometano

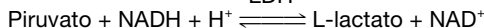
### Princípio do teste<sup>4</sup>

Teste UV de acordo com um método padronizado

- Amostra e adição do R1 (tampão/enzimas/coenzimas)
- Adição do R2 (α-cetoglutarato) e início da reacção:



O GPT é o enzima que catalisa esta reacção de equilíbrio. O aumento do piruvato é determinado numa reacção indicadora catalisada pela lactato-desidrogenase.



Na 2ª reacção, o NADH é oxidado para NAD. A velocidade de diminuição do NADH (medido fotometricamente) é directamente proporcional à velocidade de formação do piruvato e, logo, à actividade da ALT.

### Concentrações das soluções de trabalho

**R1** Tampão/enzimas/coenzimas (frascos 1 e 1a)

Tampão TRIS: 125 mmol/l, pH 7,3; L-alanina: 625 mmol/l; NADH: 0,23 mmol/l (levedura); LDH ≥ 1,5 U/ml (microrganismos); conservante

**R2** α-Cetoglutarato (frasco 2)

α-Cetoglutarato: 94 mmol/l; conservante

### Precauções e advertências

Para utilização em diagnóstico *in vitro*.

Respeite as precauções normais de manuseamento de reagentes laboratoriais.

### Preparação dos reagentes

**R1:** Para preparar 50 ml, dissolva dois comprimidos de reagente do frasco 1a no frasco 1, rodando suavemente.

Para séries mais pequenas, dissolva 2 comprimidos de reagente do frasco 1a em 25 ml de tampão do frasco 1 rodando suavemente.

**R2:** Pronto a ser utilizado.

### Conservação e estabilidade

Componentes no kit fechado: até ao fim do prazo de validade indicado quando conservado a 2-8°C

R1: 28 dias aberto e refrigerado no analisador

R2: 90 dias aberto e refrigerado no analisador

### Colheita e preparação das amostras

O soro é recolhido em tubos de amostra standard.

Plasma tratado com heparina ou com EDTA.

Estabilidade: 24 horas a 20-25°C<sup>5</sup>

3 dias a 20-25°C<sup>5</sup> (com activação por fosfato piridoxal)

4 horas a 2-8°C<sup>5</sup>

> 7 dias<sup>6</sup> a -70°C (com activação por fosfato piridoxal)

Determinação sem activação por fosfato de piridoxal:

Separe o soro/plasma do coágulo/células no espaço de 8 horas, à temperatura ambiente, ou 48 horas a 2-8°C.

Determinação com activação por fosfato de piridoxal:

Separe o soro/plasma do coágulo/células no espaço de 3 dias após a colheita e guarde a 2-8°C.

As amostras que contêm precipitado têm de ser centrifugadas antes da realização do ensaio.

### Componentes do teste

*Material fornecido*

• Soluções de trabalho, conforme descritas acima.

*Outros materiais necessários*

• Calibradores e controlos conforme indicado abaixo.

• NaCl a 0,9%

### Realização do ensaio

Consulte o manual do operador apropriado e/ou a secção relativa às definições do analisador nesta bula para obter instruções mais específicas sobre o analisador. Quando se executam ensaios não validados pela Roche, esta não garante os resultados, pelo que esses ensaios devem ser definidos pelo utilizador.

### Calibradores

S1: NaCl a 0,9%

S2: C.f. a. s. (Calibrador para sistemas automáticos)

Ao programar o instrumento, determine o factor K.

Frequência da calibração

Recomenda-se a realização de uma calibração contra branco:

• após mudança do lote de reagente

• conforme necessário de acordo com os procedimentos de controlo necessários

Verificação da calibração: não é necessária.

### Controlo de qualidade

Para o controlo de qualidade, utilize o Precinorm U, Precinorm E, Precipath U, Precipath E ou outros materiais de controlo adequados. Os intervalos e os limites de controlo deverão ser adaptados às exigências específicas de cada laboratório e aos requisitos específicos de cada país. Os valores obtidos devem situar-se dentro dos intervalos definidos.

Cada laboratório deverá estabelecer as suas próprias normas no que diz respeito às medidas correctivas a tomar no caso de os valores se situarem fora do intervalo definido.

### Cálculo

Os analisadores Roche/Hitachi calculam automaticamente a actividade de ALT de cada amostra.

Factores de conversão: U/l x 0,0167 = μkat/l

### Limitações - interferências<sup>6,7</sup>

Crítério: recuperação dentro de ± 10% dos valores iniciais.

Icterícia: Nenhuma interferência significativa até um índice I de 60 (concentração aprox. de bilirrubina conjugada e de bilirrubina não-conjugada: 60 mg/dl).

Hemólise: Nenhuma interferência significativa até um índice H de 300 (concentração aproximada de hemoglobina: 300 mg/dl). A contaminação por eritrócitos pode elevar os resultados.

Lipemia (Intralipid): Nenhuma interferência significativa até um índice L de 500 (concentração aproximada de triglicéridos: 1000 mg/dl). Existe uma relação fraca entre a turbidez e a concentração de triglicéridos. A lipemia pode provocar uma absorvância diminuída em resultado de um aumento da absorção.



# ALT (ALAT/GPT)

## Intervalo de medição/referência

Intervalo de medição: 4–600 U/l ou 0,07–10,00  $\mu$ kat/l

Determine as amostras com actividades superiores através da função de reanálise. Nos analisadores sem função de reanálise, dilua manualmente as amostras com NaCl a 0,9% ou água destilada/desionizada (p. ex., 1 + 2). Multiplique o resultado pelo factor de diluição apropriado. (p. ex., 3).

**Valores teóricos** baseados no método IFCC e no método padrão optimizado da DGKC (1972).

		25°C <sup>8,9</sup>	30°C**	37°C**
U/l	Homens	até 22	até 29	até 41
	Mulheres	até 17	até 22	até 31
$\mu$ kat/l	Homens	até 0,37	até 0,48	até 0,68
	Mulheres	até 0,28	até 0,37	até 0,52

\*\* Valores calculados

Factores utilizados para a conversão de valores de 25°C: 1,32 (30°C) e 1,85 (37°C).

Cada laboratório deve verificar se os valores teóricos podem ser aplicados à sua própria população de doentes e, se necessário, determinar os seus próprios valores de referência. Quando o objectivo é o diagnóstico, os resultados da ALT devem ser sempre interpretados em conjunto com a anamnese do doente, exames clínicos e outros resultados.

## Dados específicos sobre o desempenho do teste

São apresentados a seguir dados representativos do desempenho utilizando um analisador Roche/Hitachi. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

## Imprecisão<sup>6</sup>

A reprodutibilidade foi determinada utilizando amostras e controlos humanos num protocolo interno (intra-ensaio: n = 21, entre dias: n = 10). Obtiveram-se os seguintes resultados:

Amostra	Intra-ensaio			Entre dias		
	Média U/l	SD U/l	%CV	Média U/l	SD U/l	%CV
Soro humano	42	0,71	1,6	42	1,90	4,4
Precinorm U	59	1,74	2,9	55	2,10	3,7
Precipath U	129	0,93	0,7	130	4,40	3,3

SD = desvio-padrão (Standard Deviation)  
CV = coeficiente de variação

## Sensibilidade analítica (limite de detecção inferior)<sup>6</sup>

4 U/l (0,07  $\mu$ kat/l)

O limite de detecção inferior representa a actividade mais baixa de ALT passível de ser distinguida de zero. É calculado como 3 desvios-padrão de 21 repetições do padrão mais baixo.

## Comparação dos métodos<sup>6</sup>

Uma comparação do ensaio da ALT com um volume de amostra de 10  $\mu$ l (y) com o ensaio de 20  $\mu$ l (x), utilizando o reagente ALT IFCC da Roche num analisador Roche/Hitachi 911, teve como resultado as seguintes correlações (U/l):

Passing/Bablok<sup>10,11</sup>      Regressão linear  
 $y = -0,596 + 1,003 x$        $y = -0,955 + 1,006 x$   
 $r = 0,9995$        $r = 0,9995$   
SD (md 95) = 1,9       $Sy.x = 1,6$

Número de amostras medidas: 85

A actividade das amostras variou entre 4 e 276 U/l.

## Bibliografia

- 1 Greiling H, Gressner AM (eds.). Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3. ed. Stuttgart/New York: Schattauer Verlag, 1995.
- 2 Wroblewski F, LaDue JS. Ann Intern Med 1956;45:801.
- 3 Wroblewski F, LaDue JS. Proc Soc Exp Biol Med 1956;91:569.
- 4 Bergmeyer HU, Hørdler M, Rej R. Approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC Method for alanine aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1986;24:481–489.
- 5 Tietz NW (Ed.). Clinical Guide to Laboratory Tests, 3. Auflage. Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1995:20–21.
- 6 Documentação da Roche
- 7 Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470–474.
- 8 Wallnöfer H, Schmidt E, Schmidt FW (eds.). Synopsis der Leberkrankheiten. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1974.
- 9 Thefeld W et al. Dtsch med Wschr 1974;99:343.
- 10 Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709–720.
- 11 Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783–790.



# ALT (ALAT/GPT)

Português – 1999-06 – 2143011001\_03\_01

## ALT IFCC com activação por fosfato de piridoxal (Método Padrão 94)

São necessários comprimidos de fosfato de piridoxal  
**400939** Kit com 1 x 25 comprimidos

### Função

Teste para determinação quantitativa in vitro da alanina-amino-transferase (ALT), com activação por fosfato de piridoxal, em soro e plasma humanos, utilizando analisadores automáticos de química clínica.

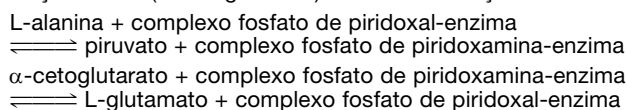
### Características<sup>1</sup>

O presente ensaio está em conformidade com as recomendações da IFCC.

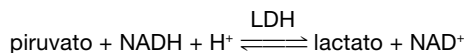
### Princípio do teste<sup>1,2</sup>

Teste UV de acordo com um método padronizado

- Amostra e adição do R1 (tampão/enzimas/coenzimas/fosfato de piridoxal)
- Adição do R2 ( $\alpha$ -cetogluturato) e início da reacção:



O fosfato de piridoxal é um coenzima que transfere um grupo amina de um aminoácido (alanina) para o  $\alpha$ -cetoácido correspondente, o  $\alpha$ -cetogluturato (que, subsequentemente, é convertido para ácido L-glutâmico). Ao mesmo tempo, a alanina é convertida em piruvato. A adição do fosfato de piridoxal à mistura de reacção assegura uma actividade catalítica máxima, ao passo que a adição do  $\alpha$ -cetogluturato provoca a re-libertação do fosfato de piridoxal e, por conseguinte, reactiva a reacção da transaminase. O aumento do piruvato é determinado na reacção indicadora catalisada pela lactato-desidrogenase.



O NADH é oxidado para NAD. A velocidade de diminuição do NADH, determinada por meios fotométricos, é directamente proporcional à velocidade de formação do piruvato e, logo, à actividade da ALT.

### Concentrações das soluções de trabalho

**R1** Tampão/enzima/coenzima/fosfato de piridoxal (frascos 1 e 1a, comprimidos de fosfato de piridoxal)

Tampão TRIS\*: 125 mmol/l, pH 7,3; L-alanina: 625 mmol/l; NADH: 0,23 mmol/l (levedura); LDH  $\geq$  1,5 U/ml (microrganismos); fosfato de piridoxal  $\geq$  120  $\mu$ mol/l; conservante

**R2**  $\alpha$ -Cetogluturato (frasco 2)

$\alpha$ -Cetogluturato: 94 mmol/l; conservante

\* TRIS = Tris(hidroxi metil)-aminometano

### Preparação dos reagentes

**R1:** Para preparar 50 ml de reagente, transfira 2 comprimidos de reagente do frasco 1a para o frasco 1 e dissolva rodando suavemente. Depois, adicione 2 comprimidos de fosfato de piridoxal e deixe dissolver.

Para séries mais pequenas, dissolva 1 comprimido de reagente do frasco 1a em 25 ml de tampão do frasco 1 rodando suavemente. Adicione 1 comprimido de fosfato de piridoxal ao reagente e deixe dissolver.

**R2:** Pronto a ser utilizado.

### Conservação e estabilidade

Componentes no kit fechado: até ao fim do prazo de validade indicado quando conservado a 2–8°C

**R1:** 6 dias aberto e refrigerado no analisador

**R2:** 90 dias aberto e refrigerado no analisador

Consulte a secção referente ao “método ALT sem activação por fosfato de piridoxal” para informações sobre a colheita e preparação de amostras, procedimento de teste, doseamento/calibração, controlo de qualidade, cálculo, interferências e intervalo de medição.

## Valores teóricos de acordo com a IFCC/Método Padrão 94 com activação por fosfato de piridoxal

		30°C***	37°C <sup>3</sup>
U/l	Homens	7–35	10–50
	Mulheres	7–24,5	10–35
$\mu$ kat/l	Homens	0,12–0,60	0,17–0,85
	Mulheres	0,12–0,40	0,17–0,60

\*\*\* Foi utilizado o factor 0,70 para a conversão de 37°C para 30°C

### Dados específicos sobre o desempenho do teste

São apresentados a seguir dados representativos do desempenho utilizando um analisador Roche/Hitachi. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

### Imprecisão<sup>5</sup>

A reprodutibilidade foi determinada utilizando amostras e controlos humanos num protocolo interno (intra-ensaio: n = 21, entre dias: n = 10). Obtiveram-se os seguintes resultados:

Amostra	Intra-ensaio			Entre dias		
	Média U/l	SD U/l	%CV	Média U/l	SD U/l	%CV
Soro humano	48	0,90	1,8	40	1,30	3,2
Precinorm U	61	1,80	2,9	55	1,20	2,1
Precipath U	131	1,40	1,1	124	0,70	0,5

SD = desvio-padrão (Standard Deviation)

CV = coeficiente de variação

### Comparação dos métodos<sup>5</sup>

Uma comparação do ensaio AST IFCC com um volume de amostra de 10  $\mu$ l (y) com o ensaio de 20  $\mu$ l (x), utilizando o reagente AST IFCC com fosfato de piridoxal da Roche num analisador Roche/Hitachi 911, teve como resultado as seguintes correlações (U/l):

Passing/Bablok<sup>6,7</sup>                      Regressão linear  
y = -0,703 + 1,026 x                      y = -1,019 + 1,033 x  
r = 0,9993                                      r = 0,9993

SD (md 95) = 2,3

Sy.x = 2,1

Número de amostras medidas: 90

A actividade das amostras variou entre 2,5 e 287 U/l.

### Bibliografia

- 1 Bergmeyer HU, Hørdler M, Rej R. Approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC Method for aspartate aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1986;24:481–489.
- 2 Keller H (Ed.). Klinisch-chemische Labordiagnostik für die Praxis, 2. ed. Stuttgart/New York, Ed.: Georg Thieme, 1991.
- 3 Klauke R, Schmidt E, Lorentz K. Recommendations for carrying out standard ECCLS procedures (1988) for the catalytic concentrations of creatine kinase, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and  $\gamma$ -glutamyltransferase at 37°C. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1993;31:901–909.
- 4 Tietz NW (ed.). Clinical Guide to Laboratory Tests, 3. ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Co, 1995:76–77.
- 5 Documentação da Roche
- 6 Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709–720.
- 7 Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783–790.



# ALT (ALAT/GPT)

## Definições do analisador Roche/Hitachi 904/911/912

Introduza os parâmetros da aplicação a partir da disquete da aplicação ou da folha com o código de barras, conforme mais adequado.

### Determinação sem fosfato de piridoxal

#### Roche/Hitachi 704

Temperatura: 30°/37°C

PROGRAM 2 CHEMISTRY PARAMETERS	
TEST	[ALT]
ASSAY CODE	[5(RATE A)]-[19]-[32]
SAMPLE VOLUME	[15]
R1 VOLUME	[350]-[50]-[NO]
R2 VOLUME	[70]-[50]-[NO]
WAVELENGTH	[700]-[340]
CALIB. METHOD	[LINEAR]-[0]-[0]
STD. (1) CONC.-POS.	[ ]-[ ]
STD. (2) CONC.-POS.	[ ]-[ ]
STD. (3) CONC.-POS.	[0]-[0]
STD. (4) CONC.-POS.	[0]-[0]
STD. (5) CONC.-POS.	[0]-[0]
STD. (6) CONC.-POS.	[0]-[0]
UNITS	[ ]
SD LIMIT	[0.1]
DUPLICATE LIMIT	[100]
SENSITIVITY LIMIT	[0]
ABS. LIMIT (INC/DEC)	[7000]-[DECREASE]
PROZONE LIMIT	[0]-[LOWER]
NORMAL RANGE	[ ]-[ ]
INSTRUMENT FACTOR	[1.00]

— Dados introduzidos pelo operador

### Determinação com fosfato de piridoxal

#### Roche/Hitachi 704

Temperatura: 30°/37°C

PROGRAM 2 CHEMISTRY PARAMETERS	
TEST	[ALT]
ASSAY CODE	[5(RATE A)]-[19]-[32]
SAMPLE VOLUME	[15]
R1 VOLUME	[350]-[50]-[NO]
R2 VOLUME	[70]-[50]-[NO]
WAVELENGTH	[700]-[340]
CALIB. METHOD	[LINEAR]-[0]-[0]
STD. (1) CONC.-POS.	[ ]-[ ]
STD. (2) CONC.-POS.	[ ]-[ ]
STD. (3) CONC.-POS.	[0]-[0]
STD. (4) CONC.-POS.	[0]-[0]
STD. (5) CONC.-POS.	[0]-[0]
STD. (6) CONC.-POS.	[0]-[0]
UNIT	[ ]
SD LIMIT	[0.1]
DUPLICATE LIMIT	[100]
SENSITIVITY LIMIT	[0]
ABS. LIMIT (INC/DEC)	[9000]-[DECREASE]
PROZONE LIMIT	[0]-[LOWER]
NORMAL RANGE	[ ]-[ ]
INSTRUMENT FACTOR	[1.00]

— Dados introduzidos pelo operador

## Roche/Hitachi 902

No.	<Chemistry>	sem P-5-P	com P-5-P
1	Test Name	ALT	
2	Assay code (Mthd)	Rate A	
3	Assay code (2.Test)	0	
4	Reaction time	10	
5	Assay Point 1	22	
6	Assay Point 2	35	
7	Assay Point 3	0	
8	Assay Point 4	0	
9	Wavelength (SUB)	700	
10	Wavelength (MAIN)	340	
11	Sample Volume	10.0	
12	R1 Volume	250	
13	R1 Pos.	.....	
14	R1 Bottle Size	Large	
15	R2 Volume	0	
16	R2 Pos.	0	
17	R2 Bottle Size	Small	
18	R3 Volume	50	
19	R3 Pos.	.....	
20	R3 Bottle Size	Large	
21	Calib. Type (Type)	Linear	
22	Calib. Type (Wght)	0	
23	Calib. Conc. 1	0.0	
24	Calib. Pos. 1	.....	
25	Calib. Conc. 2	.....	
26	Calib. Pos. 2	.....	
27	Calib. Conc. 3	0	
28	Calib. Pos. 3	0	
29	Calib. Conc. 4	0	
30	Calib. Pos. 4	0	
31	Calib. Conc. 5	0	
32	Calib. Pos. 5	0	
33	Calib. Conc. 6	0	
34	Calib. Pos. 6	0	
35	S1 ABS	0	
36	K Factor	10000	
37	K2 Factor	10000	
38	K3 Factor	10000	
39	K4 Factor	10000	
40	K5 Factor	10000	
41	A Factor	0	
42	B Factor	0	
43	C Factor	0	
44	SD Limit	0.1	
45	Duplicate Limit	15	
46	Sens. Limit	120	125
47	S1ABS. Limit (L)	-32000	
48	S1ABS. Limit (H)	32000	
49	ABS. Limit	7000	9000
50	ABS. Limit (D/I)	Decrease	
51	Prozone Limit	0	
52	Proz Limit (Upp/Low)	Lower	
53	Prozone (End Point)	35	
54	Expect. Value (L)	.....	
55	Expect. Value (H)	.....	
56	Instr. Fact. (a)	1.0	
57	Instr. Fact. (b)	0.0	
58	Key Setting	.....	

.... Dados introduzidos pelo operador

P-5-P = Fosfato de piridoxal

Para mais informações, consulte o manual do operador dos sistemas Roche/Hitachi, as folhas da aplicação respectiva e as bulas dos calibradores e dos soros de controlo.

Precinorm and Precipath are trademarks of a member of the Roche Group.  
©1999 Roche Diagnostics

Fabricado por:  
Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim, Alemanha  
Distribuidor em Portugal:  
Roche Farmacêutica Química, Lda, 2700 Amadora

Junho 1999

