

Alanine Aminotransferase

Pyridoxal Phosphate Activated (Liquid Reagent)

Alanina Aminotransferase

determinação activada por piridoxal fosfato (reagente líquido)

Informações para encomenda

COBAS INTEGRA	500 Testes	Ref. 20764957 322
Alanine Aminotransferase		System-ID 07 6495 7
Calibrador f.a.s.	12 x 3 mL	Ref. 10759350 190
Calibrador f.a.s. (para EUA)	12 x 3 mL	Ref. 10759350 360
		System-ID 07 3718 6
Precinorm U	20 x 5 mL	Ref. 10171743 122
		System-ID 07 7997 0
Precipath U	20 x 5 mL	Ref. 10171778 122
		System-ID 07 7998 9
Precinorm U plus	10 x 3 mL	Ref. 12149435 122
		System-ID 07 7999 7
Precipath U plus	10 x 3 mL	Ref. 12149443 122
		System-ID 07 8000 6

● Indica em que analisador(es) pode ser utilizado o suporte de reagentes cobas c pack

COBAS INTEGRA 400/400 plus	COBAS INTEGRA 700	COBAS INTEGRA 800
●	●	●

Informações do sistema

COBAS INTEGRA Alanine Aminotransferase (ALT).
Teste ALTPL, ID do teste 0-595.

Função

Teste in vitro para a determinação quantitativa da actividade catalítica da ALT (EC 2.6.1.2; L-alanina: 2-oxoglutarato aminotransferase) no soro e plasma humanos nos sistemas COBAS INTEGRA.

Este folheto descreve a aplicação para ALT activado com fosfato piridoxal (teste ALTPL, 0-595). A aplicação para ALT sem fosfato piridoxal é descrita no folheto informativo da Alanina Aminotransferase *Liquid Reagent*.

Sumário^{1,2}

A presença da enzima alanina aminotransferase (ALT) em vários tecidos tem sido muito referenciada. A principal fonte de ALT é o fígado, o que fez com que passasse a ser feita a determinação da actividade da ALT para diagnóstico de doenças hepáticas. Regista-se um aumento da ALT sérica na hepatite, cirrose, icterícia obstrutiva, carcinoma do fígado e no abuso crónico de álcool. A ALT fica apenas ligeiramente elevada em doentes que tenham tido um enfarte do miocárdio sem complicações.

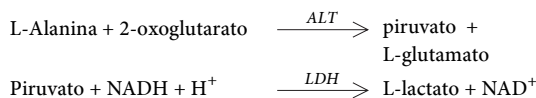
Embora tanto a aspartato aminotransferase (AST) sérica como a ALT fiquem elevadas quando os processos patológicos afectam a integridade celular hepática, a ALT é a enzima mais específica do fígado. Além disso, o aumento da actividade da ALT persiste durante mais tempo do que o aumento da actividade da AST.

A adição de fosfato de piridoxal ao ensaio provoca um aumento da actividade da aminotransferase. A activação é mais elevada para AST do que para ALT. A activação do fosfato piridoxal previne a actividade da aminotransferase falsamente elevada em amostras de pacientes com fosfato piridoxal endógeno insuficiente (deficiência de vitamina B₆).

Princípio do teste

Método de acordo com a International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), com piridoxal-5'-fosfato.^{3,4}
A ALT catalisa a reacção entre L-alanina e 2-oxoglutarato. O piruvato formado é reduzido por NADH numa reacção catalisada

por lactato desidrogenase (LDH), formando L-lactato e NAD⁺. O fosfato de piridoxal funciona como coenzima na reacção de transferência de amino. Garante total activação da enzima.



A taxa de oxidação de NADH é directamente proporcional à actividade catalítica de ALT. É determinada medindo a diminuição da absorvância a 340 nm.

Reagentes – soluções de trabalho

Componentes	Concentrações			
	R1	DP	R2 = SRTeste	
TRIS	224	100	114	mmol/L
L-Alanina	1.120		500	mmol/L
LDH (microbiana)	≥45		≥20	μkat/L
			(≥1,2	kU/L)
Albumina (bovina)	0,25		0,11	%
Fosfato piridoxal		730	100	μmol/L
NADH		≥1,7	≥0,2	mmol/L
2-Oxoglutarato		94	12	mmol/L
Azida sódica	0,09	0,09	0,09	%
pH (37°C)	7,3		7,3	

O reagente R1 contém estabilizantes não reactivos, tampões não reactivos SD e SR.

Avisos e precauções

Preste atenção a todos os avisos e precauções incluídos na Introdução do Capítulo 1 deste folheto informativo, particularmente o ponto 6 (azida sódica).

Preparação dos reagentes

Pronto a ser utilizado.

INTEGRA 400/700/800

Armazenamento e estabilidade

Validade a 2-8°C: Consulte o prazo de validade no rótulo do suporte de reagentes cobas c pack

Sistemas COBAS INTEGRA 400/400 plus
No analisador a 10-15°C 12 semanas
Analisadores COBAS INTEGRA 700/800
No analisador a 8°C 12 semanas

Colheita e preparação das amostras

Para colheita e preparação das amostras, utilize apenas tubos ou cuvetes de amostra apropriados.

Apenas as amostras indicadas em seguida foram testadas e consideradas aceitáveis.

Soro (livre de hemólise).

Plasma (livre de hemólise): Plasma tratado com heparina de lítio ou EDTA. Não utilize outros anticoagulantes.

A amostra de eleição é o soro não hemolisado.

Os tipos de amostras indicados foram testados usando tubos de colheita de amostras seleccionados e comercialmente disponíveis à data do teste, i.e. nem todos os tubos dos diferentes fabricantes disponíveis no mercado foram testados. Os sistemas de colheita de amostras de diferentes fabricantes podem, por sua vez, conter materiais diferentes que, em alguns casos, podem afectar os resultados dos testes. Se utilizar amostras em tubos primários (sistemas de colheita de amostras), consulte as instruções do fabricante dos tubos.

Estabilidade: 3 dias a 15-25°C^{5,6}
7 dias a 2-8°C^{5,6}
>7 dias a -70°C⁶

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

Materiais fornecidos

Consulte a secção "Reagentes - soluções de trabalho" no relativo aos reagentes.

Materiais necessários (mas não fornecidos)

Fosfato piridoxal, Ref. 20764965 322, System-ID 07 6496 5.
A solução de fosfato piridoxal está pronta a usar e é colocada na sua posição predefinida no suporte.
Um frasco é suficiente para cerca de 500 testes e permanece estável no analisador durante 8 semanas.

Realização do ensaio

Para assegurar a correcta execução do ensaio é importante cumprir as instruções fornecidas neste documento para o analisador utilizado. Consulte o manual do operador apropriado para obter instruções mais específicas sobre o ensaio feito neste analisador.

Aplicação para soro e plasma**Analisadores COBAS INTEGRA 400/400 plus - Definição do teste**

Modo de medida	Absorvância
Modo de cálculo da abs.	Kinsearch
Modo de reacção	R1-SD•S-SR
Sentido da reacção	Decrescente
Comprimento de onda A/B	340/378 nm
Primeiro/último cálc.	39/64
Unidade	U/L

Parâmetros de pipetagem

		Diluyente (H ₂ O)
R1	59 µL	10 µL
Amostra	11 µL	8 µL
Diluyente especial (SD)	18 µL	
SR	17 µL	9 µL
Volume total	132 µL	

Analisadores COBAS INTEGRA 700/800 - Definição do teste

Modo de medida	Absorvância
Modo de cálculo da abs.	Kinsearch
Modo de reacção	R1-SD/S-SR
Sentido da reacção	Decrescente
Comprimento de onda A/B	340/378 nm
Primeiro/último cálc.	54/97
Unidade	U/L

Parâmetros de pipetagem

		Diluyente (H ₂ O)
R1	59 µL	10 µL
Amostra	11 µL	
Diluyente especial (SD)	18 µL	8 µL
SR	17 µL	9 µL
Volume total	132 µL	

Calibração

Calibrador	Calibrator f.a.s. Utilize água desionizada como calibrador zero.
Modo de calibração	Regressão linear
Repetição da calibração	Duplicação recomendada
Intervalo de calibração	Cada lote e conforme necessário, segundo os procedimentos de controlo da qualidade

Rastreabilidade: Este método foi padronizado contra a formulação IFCC original utilizando pipetas calibradas juntamente com um fotómetro manual, que fornecem valores absolutos e a absorvidade específica do substrato, ϵ .⁷

Controlo da qualidade

Intervalo de referência	Precinorm U ou Precinorm U plus
Intervalo patológico	Precipath U ou Precipath U plus
Intervalo de controlo	24 horas (recomendado)
Sequência de controlo	Definida pelo utilizador
Controlo após calibração	Recomendado

Para o controlo da qualidade, utilize os materiais de controlo indicados na secção "Informações para encomenda". Adicionalmente pode ser utilizado outro material de controlo adequado.
Os intervalos e limites de controlo devem ser adaptados às exigências específicas de cada laboratório. Os valores obtidos devem situar-se dentro dos limites definidos.
Cada laboratório deve estabelecer as medidas correctivas a tomar no caso de os valores se situarem fora dos limites.

Cálculo dos resultados

Os sistemas COBAS INTEGRA calculam automaticamente a concentração do analito de cada amostra. Para mais informações, consulte a secção Análise de Dados, no Capítulo 7 do Manual do Utilizador (analisador COBAS INTEGRA 700),

ou a Análise de dados da ajuda Online (analísadores COBAS INTEGRA 400/400 plus/800).

Factor de conversão: $U/L \times 0,0167 = \mu\text{kat/L}$

Limitações - interferências⁸

Critério: Recuperação dentro de $\pm 10\%$ do valor inicial.

Soro, plasma

Icterícia	Sem interferência significativa.
Hemólise	Nenhuma interferência significativa até a um índice H de 130 (concentração aproximada de hemoglobina: 81 $\mu\text{mol/L}$ ou 130 mg/dL).
Lipemia (Intralipid)	Nenhuma interferência significativa até a um índice L de 150. Existe uma correlação fraca entre o índice L (corresponde à turbidez) e a concentração de triglicéridos. As amostras lipémicas podem provocar alarmes de absorvância, em resultado do aumento da mesma. Seleccione o tratamento de amostras diluídas para reanálise automática.

Anticoagulantes O citrato e o fluoreto inibem a actividade enzimática.

Fármacos A interferência in vitro de drogas terapêuticas no ensaio foi analisada de acordo com as recomendações do "Symposium of Drug Effects in Clinical Chemistry Methods" (1996).⁹ O dobesilato de cálcio e o doxiciclina HCl provocam valores de ALT artificialmente baixos no nível de fármaco testado. Para obter uma lista dos fármacos testados e suas concentrações, consulte a Introdução no Capítulo 1.

O isoniazida em concentrações terapêuticas pode provocar resultados artificialmente baixos de alanina-aminotransferase.

Outros Em casos muito raros, a gamapatia, em particular a de tipo IgM (macroglobulinemia de Waldenstroem), pode produzir resultados pouco fiáveis.

Quando o objectivo é o diagnóstico, os resultados devem ser sempre interpretados em conjunto com a história clínica do doente, o exame clínico e outros resultados.

Intervalo de medição

2-700 U/L (0,03-11,7 $\mu\text{kat/L}$)

Intervalo de medição alargado (calculado)

Factor pós-diluição: 10 (recomendado)

2-7.000 U/L (0,03-117 $\mu\text{kat/L}$)

Limite de detecção inferior

2 U/L (0,03 $\mu\text{kat/L}$)

O limite de detecção representa o nível de analito mais baixo mensurável passível de ser distinguido de zero. É calculado como o valor situado 3 desvios padrão (DP) acima de uma amostra zero (amostra zero + 3 DP, precisão intra-ensaio, $n = 30$).

Valores de referência

Segundo a IFCC/método padrão 94, com activação por fosfato de piridoxal, medidos a 37°C:¹⁰

Homens 10-50 U/L (0,17-0,83 $\mu\text{kat/L}$)

Mulheres 10-35 U/L (0,17-0,58 $\mu\text{kat/L}$)

Valores consensuais com activação por fosfato de piridoxal:¹¹

Homens até 50 U/L (até 0,83 $\mu\text{kat/L}$)

Mulheres até 35 U/L (até 0,58 $\mu\text{kat/L}$)

Cada laboratório deve verificar a transferibilidade dos valores de referência para a sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar os seus próprios intervalos de referência.

Dados específicos sobre o desempenho

São apresentados a seguir dados representativos do desempenho dos analisadores COBAS INTEGRA. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

Precisão

A reprodutibilidade foi determinada utilizando amostras humanas e controlos num protocolo interno (intra-ensaio $n = 20$, inter-ensaio $n = 20$). Obtiveram-se os seguintes resultados:

	Nível 1	Nível 2
Média	41 U/L (0,68 $\mu\text{kat/L}$)	132 U/L (2,20 $\mu\text{kat/L}$)
CV intra-ensaio	1,5%	0,73%
CV inter-ensaio	2,0%	1,3%

Comparação dos métodos

Os valores de ALT para amostras de soro e plasma humanos obtidos no analisador COBAS INTEGRA 700 com o reagente COBAS INTEGRA Alanine Aminotransferase (ALTL) e fosfato piridoxal como diluente especial foram comparados com os valores determinados com reagentes ALT (com fosfato piridoxal) à venda no mercado num analisador COBAS INTEGRA e num sistema de química clínica de outro fabricante. As amostras foram medidas em duplicado. O tamanho da amostra (n) representa todas as réplicas.

	Analisador COBAS INTEGRA	Sistema alternativo
Tamanho da amostra (n)	228	222
Coefficiente corr. (r)	1,000	0,999
(r_s)	0,998	0,997
Regressão linear	$y = 1,06x - 2,3 \text{ U/L}$	$y = 1,03x + 0,3 \text{ U/L}$
Passing/Bablok ¹²	$y = 1,05x - 1,8 \text{ U/L}$	$y = 1,03x + 0,6 \text{ U/L}$

Os valores variaram entre 4 e 446 U/L (0,07 a 7,43 $\mu\text{kat/L}$).

Bibliografia

- Sherwin JE. Liver function. In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry, theory, analysis, and correlation. St. Louis: Mosby 1984:420-438.
- Moss DW, Henderson AR, Kachmar JF. Enzymes. In: Tietz NW, ed. Fundamentals of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders 1987:346-421.
- Bergmeyer HU, Hørdér 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;24:481-495.
- ECCLS. Determination of the catalytic activity concentration in serum of L-alanine aminotransferase (EC 2.6.1.2, ALAT) Klin Chem Mitt 1989;20:204-211.
- Heins M, Heil H, Withold W. Storage of Serum or Whole Blood Samples? Effect of Time and Temperature on 22 Serum Analytes. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1995;33:231-238.
- Documentação da Roche Diagnostics.
- Schumann G et al. IFCC Primary Reference Procedures for the Measurement of Catalytic Activity Concentrations of Enzymes at 37°C - Part 4. Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Activity Concentrations of Alanine Aminotransferase. Clin Chem Lab Med 2002;40(7):718-724.
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474.

9. Breuer J, Report on the Symposium "Drug Effects in Clinical Chemistry Methods". Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.
10. 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 γ -glutamyltransferase at 37°C. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1993;31:901-909.
11. Thomas L et al. Consensus of DGKL and VDGH for interim reference intervals on enzymes in serum. J Lab Med 2005; 29(5):301-308.
12. Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.

As alterações ou os acréscimos significativos estão assinalados por uma barra de alteração na margem.
©2007 Roche Diagnostics.



Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

