

ALP IFCC Gen.2

Primary Tube

ALP IFCC 2ª geração

Tubo primário

Informações para encomenda

COBAS INTEGRA® ALP IFCC Gen.2 Small	200 testes	Ref. 03333752 System-ID 07 6761 1
COBAS INTEGRA® ALP IFCC Gen.2 Large	400 testes	Ref. 03333701 System-ID 07 6760 3
Calibrator f.a.s.	10 × 3 ml	Ref. 10759350 System-ID 07 3718 6
Precinorm® U	20 × 5 ml	Ref. 10171743 System-ID 07 7997 0
Precipath® U	20 × 5 ml	Ref. 10171778 System-ID 07 7998 7
Precinorm® U plus	10 × 3 ml	Ref. 12149435 System-ID 07 7999 7
Precipath® U plus	10 × 3 ml	Ref. 12149443 System-ID 07 8000 6

● Indica em que analisador(es) pode ser utilizada a cassette

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

Função

As cassetes COBAS INTEGRA ALP IFCC Gen.2 Small (ALP2S) e COBAS INTEGRA ALP IFCC Gen.2 Large (ALP2L) contêm um sistema de reagentes de diagnóstico in vitro para utilização em analisadores COBAS INTEGRA com vista à determinação quantitativa da fosfatase alcalina (EC 3.1.3.1; fosfohidrolase monoéster ortofosfórica, óptimo alcalino) no soro e no plasma (testes AP2SP, 0-554 e AP2LP, 0-553). Ambas as aplicações destinam-se a clientes que obtêm resultados não válidos devido a um gradiente de fosfatase alcalina nos tubos primários com plasma.

Características^{1,2,3,4,5,6}

A fosfatase alcalina no soro é constituída por quatro genótipos estruturais: o tipo fígado-osso-rim, o tipo intestinal, o tipo placenta e a variante das células germinais. Ocorre nos osteoblastos, hepatócitos, leucócitos, rins, baço, placenta, próstata e intestino delgado. O tipo fígado-osso-rim é particularmente importante. Ocorre um aumento da fosfatase alcalina em todas as formas de colestase, particularmente na icterícia obstrutiva. Também se encontra elevada em doenças do sistema esquelético, como a doença de Paget, o hiperparatiroidismo, o raquitismo e a osteomalacia, assim como em fracturas e em tumores malignos. Por vezes, observa-se um aumento considerável da actividade da fosfatase alcalina nas crianças e nos jovens.

Este aumento é provocado por uma maior actividade dos osteoblastos, após crescimento ósseo acelerado. O método de ensaio foi descrito pela primeira vez por King e Armstrong, modificado por Ohmori, Bessey, Lowry e Brock e melhorado posteriormente por Hausamen et al. Em 1983, a International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) recomendou um método padronizado para a determinação da fosfatase alcalina, utilizando uma concentração optimizada de substrato e 2-amino-2-metil-1-propanol como tampão com os catiões magnésio e zinco. O ensaio aqui descrito está de acordo com as recomendações da IFCC.

O método de ensaio foi descrito pela primeira vez por King e Armstrong, modificado por Ohmori, Bessey, Lowry e Brock e melhorado posteriormente por Hausamen et al. Em 1983, a International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) recomendou um método padronizado para a determinação da fosfatase alcalina, utilizando uma concentração optimizada de substrato e 2-amino-2-metil-1-propanol como tampão com os catiões magnésio e zinco. O ensaio aqui descrito está de acordo com as recomendações da IFCC.

Princípio do teste⁶

Ensaio colorimétrico de acordo com um método padronizado.

Em presença dos iões magnésio e zinco, o p-nitrofenil fosfato é clivado pelas fosfatases em fosfato e em p-nitrofenol.



O p-nitrofenol libertado é directamente proporcional à actividade catalítica da ALP. É determinada medindo o aumento da absorvância a 409 nm.

Reagentes - soluções de trabalho

Cassete ALP2S

R1 Tampão/activadores no frasco A (líquido)

R2 = SR Substrato no frasco C (líquido).

Cassete ALP2L

R1 Tampão/activadores nos frascos A e B (líquido).

R2 = SR Substrato no frasco C (líquido).

Componentes activos

Componentes	Concentrações		
	R1	SR	Teste
2-Amino-2-metil-1-propanol	1,724	0,92	mol/l
Acetato de magnésio	3,83	2,0	mmol/l
Sulfato de zinco	0,766	0,41	mmol/l
Ácido N-(2-hidroxi- <i>etil</i>)- etilenodiamino triacético	3,83	2,0	mmol/l
p-nitrofenil fosfato		132,8	16,1 mmol/l
pH (30°C)	10,44		

Ambos os reagentes contêm estabilizantes e conservantes não reactivos.

Consulte o rótulo da cassette para saber quais são os volumes dos reagentes.

Precauções e advertências

Preste atenção a todas as precauções e advertências incluídas na Introdução do Capítulo 1.

INTEGRA 400/700/800

Preparação dos reagentes

Pronto a ser utilizado.

Conservação e estabilidade

Validade a 2 - 8°C	Ver o prazo de validade na cassette.
INTEGRA 400	
No analisador a 10 - 15°C	4 semanas
INTEGRA 700/800	
No analisador a 8°C	8 semanas

Colheita e preparação das amostras

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

Soro: O soro é colhido utilizando tubos de amostra padrão.

Plasma: Plasma tratado com heparina (Li-, Na-, NH₄-).

Quando utilizar amostras em tubos primários, consulte as instruções do fabricante dos tubos.

Estabilidade: ⁷	7 dias a 20-25°C
	7 dias a 4-8°C
	2 meses a -20°C

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

Materiais fornecidos

Consulte a secção "Reagentes - soluções de trabalho".

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**INTEGRA 400 - Definição do teste**

Modo de medida	Absorvância
Modo de cálculo da abs.	Cinético
Modo de reacção	D-R1-S-SR
Sentido da reacção	Crescente
Comprimento de onda A/B	409/659 nm
Primeiro/último cálc.	41/64
Intervalo do teste	0-1200 U/l (0-20 µkat/l)
com pós-diluição	0-6000 U/l (0-100 µkat/l)
Factor pré-diluição	10
Factor pós-diluição	5 (recomendado)
Unidade	U/l

Parâmetros de pipetagem

	Diluyente (H ₂ O)	
R1	75 µl	11 µl
Amostra	27,5 µl	
SR	17 µl	10 µl
Volume total	140,5 µl	

INTEGRA 700/800 - Definição do teste

Modo de medida	Absorvância
Modo de cálculo da abs.	Cinético
Modo de reacção	D-R1-S-SR
Sentido da reacção	Crescente
Comprimento de onda A/B	409/659 nm
Primeiro/último cálc.	58/98
Intervalo do teste	0-1200 U/l (0-20 µkat/l)
com pós-diluição	0-6000 U/l (0-100 µkat/l)
Factor pré-diluição	10

Factor pós-diluição	5 (recomendado)
Unidade	U/l

Parâmetros de pipetagem

	Diluyente (H ₂ O)	
R1	75 µl	11 µl
Amostra	27,5 µl	
SR	17 µl	10 µl
Volume total	140,5 µl	

Calibração

Calibrador	Calibrador f.a.s. Utilize água desionizada como calibrador zero.
Modo de calibração	Regressão linear
Repetição da calibração	Duplicado (recomendado)
Intervalo de calibração	Cada lote

Rastreabilidade: Este método foi padronizado manualmente contra a formulação original da IFCC.⁸

Controlo de 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

Cálculo

Os sistemas COBAS INTEGRA calculam automaticamente a actividade do analito de cada amostra. Para mais informações, consulte a secção Análise de Dados, no Capítulo 7 do Manual do Utilizador (COBAS INTEGRA 700), ou a Análise de dados da ajuda Online (COBAS INTEGRA 400/800).

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

Limitações - interferências

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

Soro, plasma

Hemólise	Sem interferência significativa até um nível de hemoglobina de 0,16 mmol/l (2,5 g/l).
Icterícia	Sem interferência significativa.
Lipemia	Sem interferência significativa.
Outros	Em casos muito raros, a gamapatia, em particular a de tipo IgM (macroglobulinemia de Waldenström), pode produzir resultados pouco fiáveis.

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

Valores teóricos

(medidos a 37°C)

Adultos ^{9,10}		
Mulheres (n = 229)	35-104 U/l	(0,58-1,74 µkat/l)
Homens (n = 221)	40-129 U/l	(0,67-2,15 µkat/l)
Crianças ^a		
com 1 dia	<250 U/l	(<4,17 µkat/l)
com 2-5 dias	<231 U/l	(<3,84 µkat/l)
com 6 dias-6 meses	<449 U/l	(<7,49 µkat/l)
com 7 meses-1 ano	<462 U/l	(<7,69 µkat/l)
com 1-3 anos	<281 U/l	(<4,67 µkat/l)
com 4-6 anos	<269 U/l	(<4,48 µkat/l)

com 7-12 anos	<300 U/l	(<5,00 µkat/l)
com 13-17 anos (m)	<187 U/l	(<3,11 µkat/l)
com 13-17 anos (h)	<390 U/l	(<6,51 µkat/l)

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

a) Calculado a partir de intervalos de referência publicados para o método opt. ALP (DGKC)¹¹ utilizando um factor de 0,417 derivado de uma comparação de métodos.⁸ Foram publicados factores de conversão para outras temperaturas,¹² mas os valores para este reagente não foram verificados pela Roche.

Dados específicos sobre o desempenho⁸

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	84 U/l (1,40 µkat/l)	226 U/l (3,77 µkat/l)
CV intra-ensaio	0,7%	0,4%
CV inter-ensaio	2,1%	1,7%

Sensibilidade analítica (limite de detecção inferior)

2 U/l (0,03 µkat/l)

O limite de detecção representa a concentração de analito mais baixa mensurável passível de ser distinguida 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 = 21).

Comparação dos métodos

Os valores de ALP das amostras de soro e plasma humano obtidos no COBAS INTEGRA 700 com a cassette COBAS INTEGRA ALP IFCC Gen.2 (ALP2L) e com a aplicação AP2LP foram comparados com os valores determinados com o mesmo reagente, utilizando a aplicação ALP2L, e com o reagente anterior utilizando a aplicação ALP6P no COBAS INTEGRA 700.

COBAS INTEGRA (ALP2L)	Tamanho amostra (n) = 54
Passing/Bablok	Regressão linear
$y = 1,003x - 0,195$ U/l	$y = 0,999x + 2,11$ U/l
$\tau = 0,976$	$r = 1,000$
DP (md 95) = 9,19	$Sy.x = 4,06$

Os valores variaram entre 39 e 1010 U/l (0,65 e 16,9 µkat/l).

COBAS INTEGRA (ALP6P)	Tamanho amostra (n) = 67
Passing/Bablok	Regressão linear
$y = 0,991x + 0,81$ U/l	$y = 0,997x - 1,35$ U/l
$\tau = 0,976$	$r = 1,000$
DP (md 95) = 7,16	$Sy.x = 3,39$

Os valores variaram entre 39 e 862 U/l (0,65 e 14,4 µkat/l).

Bibliografia

1. Greiling H, Gressner AM, eds. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3rd ed. Stuttgart/New York: Schattauer Verlag 1995.
2. King EJ, Armstrong AR. Can Med Assoc J 1934;31:376.
3. Ohmori Y. Enzymologia 1937;4:217.
4. Bessey OAH et al. J Biol Chem 1946;164:321.
5. Hausamen TU et al. Clin Chim Acta 1967;15:241.
6. Tietz NW et al. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:731-748.
7. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes; Pre-analytical Variables. Brochure in: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT Verlag 1996.
8. Documentação da Roche Diagnostics.
9. Abicht K, El-Samalouti V, Junge W, Kroll M, Luthe H, Treskes M et al. Multicenter evaluation of new GGT and ALP reagents with new reference standardization and determination of 37°C reference intervals. Clin Chem Lab Med 2001;39 Special Supplement pp S 346.
10. Tietz NW, Shuey DF. Reference intervals for Alkaline Phosphatase Activity Determined by the IFCC and AACC Reference Methods. Clin Chem 1986;32:1593-1594.
11. Fischbach F, Zawta B. Age-dependent Reference Limits of Several Enzymes in Plasma at Different Measuring Temperatures. Klin Lab 1992;38:555-561.
12. Zawta B, Klein G, Bablok W. Temperature conversion in clinical enzymology? Klin Lab 1994;40:33-42.



Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

