

REF 10205-4 4 X 31 mL / 7 mL

ALANINA AMINOTRANSFERASE (ALT)

Os frascos em forma de cunha contêm volume útil de 31 mL do reagente R1; o frasco de 10 mL contém 7 mL do reagente R2.

INDICAÇÃO DE USO

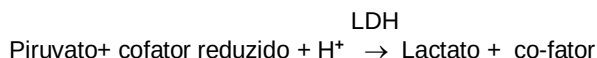
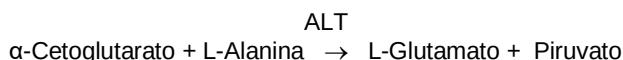
O reagente ALT EasyRA é destinado à determinação quantitativa da atividade da alanina aminotransferase no soro e plasma humanos (com heparina de lítio como anticoagulante), usando o Analisador Químico Clínico EasyRA® MEDICA. Para uso somente em diagnósticos *in vitro*. Somente para uso profissional.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

A alanina aminotransferase é uma enzima intracelular envolvida no metabolismo de aminoácidos e carboidratos, liberada na ocorrência de danos teciduais. As medições de alanina aminotransferase são utilizadas no diagnóstico e tratamento de determinadas doenças do fígado (tais como hepatite viral e cirrose). Na necrose hepática, a elevação dos níveis de ALT ocorre antes do aparecimento de icterícia¹.

PRINCÍPIO DO PROCEDIMENTO

Este método baseia-se nos procedimentos de Wroblewski e Ladue², ou seja, na oxidação do NADH pela lactato desidrogenase (LDH). O reagente é baseado em modificações dos métodos do IFCC³ e de Bergmeyer.⁴



A taxa de diminuição da absorbância da mistura a 340 nm, devido à oxidação do co-fator reduzido, é diretamente proporcional à atividade da ALT na amostra.

REAGENTES

Reagente Tampão para ALP (R1):

L-Alanina	500 mmol/L
LDH (músculo de coelho)	1200 U/L
Tampão tris, pH 7,5	100 mmol/L

Reagente Substrato de ALT (R2):

α -Cetoglutarato	15 mmol/L
NADH, sal dissódico	0,18 mmol/L

Ingredientes não-reagentes:

Tampões, estabilizadores e conservantes.

PRECAUÇÕES

1. As boas práticas de segurança em laboratórios devem ser seguidas para o manuseio de qualquer reagente (CLSI, GP17-A2).
2. Os reagentes contêm menos de 0,1% de azida de sódio, que pode reagir com tubulações de chumbo e cobre e formar azidas metálicas altamente explosivas. Consulte a Folha de Informações sobre Segurança de para informações sobre riscos e medidas de segurança.
3. Como para qualquer procedimento de teste de diagnóstico, os resultados devem ser interpretados considerando-se os resultados de outros testes e o estado clínico do paciente.
4. Não utilize cubetas lavadas.

INSTRUÇÕES DE MANUSEIO, ARMAZENAGEM E ESTABILIDADE DO REAGENTE

Os reagentes R1 e R2 devem ser misturados no frasco divisório antes de serem utilizados. Os reagentes permanecerão estáveis em frasco fechado até a data de validade informada no rótulo desde que armazenados a 2 - 8 °C. O reagente pronto permanece estável a bordo da área refrigerada para reagentes do Analisador EasyRA pelo número de dias programado no chip RFID encontrado no frasco. Não utilize o reagente se estiver turvo ou opaco ou se os valores conhecidos para controle de soro não forem obtidos.

Coleta e Armazenagem/Estabilidade da Amostra

Tubos revestidos com heparina de lítio podem ser usados para a coleta de plasma. Amostras não hemolisada e límpidas devem ser utilizadas. A ALT sérica permanece estável por 24 horas a 18 - 25 °C e 7 dias a 2 - 8 °C⁵.

Limitações e interferência de aditivos no tubo de coleta

A hemólise deve ser evitada, pois a concentração de ALT nas células vermelhas do sangue é 3-5 vezes maior do que no soro.⁶

PROCEDIMENTO

Materiais Fornecidos

Frasco de Reagente/Frasco de R2 para ALT Medica, REF 10205

Materiais adicionais necessários

Controle de Qualidade EasyCQ® Medica – Nível A – Química/Eletrólitos, REF 10793

Controle de Qualidade EasyCQ Medica – Nível B – Química/Eletrólitos, REF 10794

Frasco de Corante Medica para Teste de Precisão, REF 10764

Frasco de Solução de Limpeza Medica – Química e ISE, REF 10660 ou

Frasco de Solução de Limpeza Medica – Química, REF 10661

Instruções de Uso

Os reagentes R1 e R2 devem ser misturados no frasco divisório antes de serem utilizados. O reagente R1 vem no frasco divisório em forma de cunha. Adicione todo o conteúdo do frasco pequeno de reagente R2 no frasco em forma de cunha e misture bem por inversão antes do uso. Haverá um total de 38 mL de reagente pronto para ser utilizado após a mistura. Remova a tampa do reagente pronto e coloque-o na bandeja do Analisador EasyRA, localizada na área reservada para reagentes. A estabilidade a bordo (44 dias no máximo) do reagente pronto encontra-se programada no chip RFID do frasco divisório.

Observação: Após remover a tampa e colocar o frasco no analisador, verifique se há espuma no interior do gargalo do frasco. Se houver espuma, remova com um swab ou com uma pipeta descartável antes de executar o teste.

Calibração

Não aplicável.

Controle de Qualidade

Recomenda-se a execução de dois níveis de controle baseado em soro humano (normal e anormal) junto com a análise diariamente, sempre que forem executados testes de paciente, e a cada troca de lote de reagente. A não obtenção de valores dentro do intervalo adequado a partir da análise do material de controle pode indicar deterioração do reagente, mau funcionamento do instrumento ou erros de procedimento. O laboratório deve seguir as diretrizes municipais, estaduais e federais de controle de qualidade ao usar materiais de controle de qualidade.

Resultados

Após a finalização da análise, o Analisador EasyRA calcula a concentração de ALT a partir da alteração de absorbância por minuto, volume da amostra, volume total de reação, comprimento de trajetória (cm) de 0,6 e absorvidade molar de 6,22.

$$\text{ALT (U/L)} = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{Volume total}(\mu\text{l}) \times 1000)}{(\text{Absortividade molar} \times \text{Comp. Traj. (cm)} \times \text{Volume da Amostra}(\mu\text{l}))}$$

Valores Esperados⁵

O intervalo de referência para ALT em soro é o seguinte:

Adultos do sexo masculino:	10-40 U/L
Adultos do sexo feminino:	7-35 U/L
Recém-nascido:	13-45 U/L

Esses valores são orientativos. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de valores esperados, considerando-se as diferenças entre os instrumentos, as instalações laboratoriais e as populações locais.

Limitações do Procedimento (por exemplo, amostra ultrapassa o intervalo do exame)

Devem ser usadas apenas amostras de soro não hemolisado.

Se a Alteração de Absorbância por Minuto ($\Delta A/\text{Min}$) for maior do que 0,032, o que corresponde a 500 U/L, os resultados serão sinalizados como "SD" (esgotamento de substrato) pelo analisador. Se o ícone de novo teste for selecionado pelo operador, a amostra poderá ser testada novamente usando metade (1/2) do volume da amostra. Os resultados do novo teste são calculados para refletir o uso de um volume menor da amostra. Isso irá estender o intervalo reportável do teste de ALT até 1000 U/L.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO⁷

Intervalo reportável

O intervalo reportável vai de 5,0 a 500 U/L. O intervalo estendido vai de 5,0 a 1000 U/L quando metade da amostra é usada (diluição 1:1).

Inexatidão/Correlação (CLSI, EP9-A2)

A tabela a seguir lista os dados obtidos em uma comparação do desempenho do novo Reagente para ALT Medica (y) no Analisador EasyRA, com o desempenho do reagente para ALT anterior (x) no Analisador EasyRA. Os dados mostrados abaixo são determinações avulsas com o novo reagente para ALT Medica no Analisador EasyRA comparadas à média de dois valores replicados obtidos com o reagente para ALT Medica anterior no Analisador EasyRA.

Número de amostras	80	Intervalo de amostras	11,5 a 455,1 U/L
Declive	1,0239	Intercepta y	-0,8187
Coefficiente de Correlação	0,9996	Equação de regressão	$Y = 1,0239 \cdot X - 0,8187$

A tabela a seguir lista os dados obtidos em uma comparação de amostras correspondentes de soro (x) e plasma (y) usando o Reagente para ALT Medica no Analisador EasyRA. Os dados mostrados abaixo são determinações avulsas de plasma comparadas à média de dois valores replicados de soro.

Número de amostras	60	Intervalo de amostras	7,6 a 449,3 U/L
Declive	1,0027	Intercepta y	-0,4762
Coefficiente de Correlação	0,9992	Equação de regressão	$Y = 1,0027 \cdot X - 0,4762$

Imprecisão (CLSI, EP5-A2)

Medições duplicadas de cada um dos três níveis do material de CQ foram testadas duas vezes ao dia, por 20 dias. Tanto a precisão durante a rodada quanto a precisão total foram determinadas a partir desses dados.

Imprecisão em uma mesma rodada:

Nível de CQ U/L	SD na Rodada U/L	CV na Rodada %
205,2	1,91	0,93
90,7	1,52	1,68
27,4	0,75	2,72

Imprecisão Total:

Nível de CQ U/L	SD de Imprecisão Total U/L	CV de Imprecisão Total %
205,2	3,02	1,47
90,7	1,95	2,16
27,4	1,00	3,65

Linearidade (CLSI, EP6-A)

Linear de 5,0 a 500 U/L, com base na equação de regressão linear $Y = 0,998 \cdot X + 1,2333$.

Limit de branco (LOB):	2,4 U/L	(NCCLS, EP17-A)
Limit de detecção (LOD):	4,2 U/L	(NCCLS, EP17-A)

Substâncias Interferentes (NCCLS, EP7-A)

Interferência de até 10% foi classificada como “nenhuma interferência significativa”.

Há interferência significativa de hemólise. A hemólise deve ser evitada, pois a concentração de ALT nas células vermelhas do sangue é aproximadamente 5 vezes maior do que no soro. Não utilize amostras hemolisadas.

Nenhuma interferência significativa foi observada em níveis de até 28 mg/dL de bilirrubina.

Nenhuma interferência significativa foi observada em níveis de até 1500 mg/dL de triglicérides (usando Intralipid*).

*Intralipid é marca comercial registrada da Pharmacia AB, Clayton, NC

Young fornece uma lista de medicamentos e outras substâncias que podem interferir em testes clínicos químicos.^{8,9}

REFERÊNCIAS

- 1 Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Co.; 1994: 790-791.
- 2 Wroblewski, F. and LaDue, J.S., Proc. Soc. Exper. Biol. And Med. 91:569 (1956).
- 3 International Federation of Clinical Chemistry, Provisional Concentrations of Enzymes, Clin Chem 23: 887, 1977.
- 4 Bergmeyer HU, Scheibe P, Wahlefeld, AW: Optimization of methods for aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase. Clin Chem 24: 58, 1978.
- 5 Burtis, C.A., Ashwood, E.R. (Ed.) *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, W.B. Saunders Co. Toronto, p 1800 (1999).
- 6 Henry R.J. *Clinical Chemistry-Principles and Technics*. New York, NY: Harper & Row; 1974: 881, 888.
- 7 Dados arquivados na Medica Corporation.
- 8 Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4th ed. Washington, DC: AACC Press, 1995.
- 9 Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC. AACC Press, 1997.

Parâmetros de Análise EasyRA (ALT)

Comprimento de Onda (nm)	340/405 nm
Tipo de Reação	Enzimática (0)
Direção do Reagente	Decrescente
Branco de Reagente	Não
Branco de Amostra	Não
Alter. de abs. máx. no 1º int.	0,032
Tempo de Reação	5,6 min.
Intervalo de calibração (máximo)	N/D
Estabilidade a bordo do reagente	44 dias

Soro/plasma

Volume de amostra (µl)	8,0
Volume de Diluente (µl)	32
Volume do Reagente (µl)	152
Casas decimais (padrão)	1
Unidades (valores padrão)	U/L
Fator de Diluição	1:1 (para extensão do intervalo de medição)
Linearidade	5,0 a 500 U/L
Absortividade Molar	6,22



Medica Corporation, 5 Oak Park Drive
Bedford, MA 01730-1413 USA



Emergo Europe, Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague, The Netherlands