

Utilização prevista

Para a determinação quantitativa de alanina aminotransferase (ALT) no soro utilizando os analisadores Yumizen C230 e Yumizen C240. **Rx Only.**

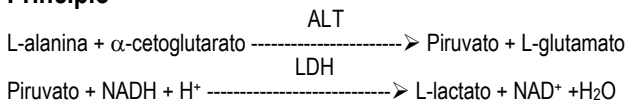
Relevância clínica

A ALT está amplamente distribuída pelos tecidos, com as maiores concentrações no fígado e nos rins. Mesmo assim, a ALT é considerada mais específica do fígado do que a AST. Geralmente, observam-se níveis elevados de ALT em doenças hepáticas como cirrose, hepatite ou carcinoma metastático. No entanto, podem existir níveis elevados de ALT no caso de mononucleose infecciosa, distrofia muscular e dermatomiosite.¹

História dos métodos

Os métodos UV para determinação de ALT foram descritos por Henley² em 1955 e por Wroblewski e La Due³ em 1956. O procedimento foi melhorado e otimizado por Henry et al⁴ em 1960. Em 1974, a Sociedade Escandinava de Química Clínica⁵ recomendou condições de reação otimizadas. A Federação Internacional de Química Clínica (IFCC, International Federation of Clinical Chemistry)⁶ publicou uma proposta de um método recomendado em 1980 utilizando o ensaio de LDH-NADH acoplados. O procedimento aqui descrito baseia-se nesse método.

Princípio



A ALT catalisa a transferência do grupo amino da L-alanina para o α -cetoglutarato, o que resulta na formação de piruvato e L-glutamato. A desidrogenase láctica catalisa a redução de piruvato e a oxidação simultânea de NADH para NAD. A taxa de redução da absorção resultante é diretamente proporcional à atividade da ALT.

Reagentes

Depois de combinar R1 e R2, o reagente contém: L-alanina >450 mM, ácido α -cetoglutarato >14 mM, LDH (microbiano) >2000 IU/L, NADH >0,18 mM, tampão, azida de sódio a 0,28%, estabilizadores.

Preparação dos reagentes

Os reagentes estão prontos a utilizar.

Armazenamento dos reagentes

Armazene os reagentes a 2-8°C. O reagente mantém-se estável até à data de validade apresentada no rótulo, quando armazenado conforme as instruções.

Deterioração dos reagentes

Não utilize o reagente se:

1. A absorvância inicial a 340 nm for inferior a 0,800.
2. O reagente não cumprir os parâmetros de desempenho indicados.

Precauções

1. Este conjunto de reagentes destina-se apenas a diagnóstico *in vitro*.
2. O reagente contém azida de sódio (0,28%) como conservante. Não ingerir. Pode reagir com canalização de chumbo e cobre, formando azidas de metal altamente explosivas. Aquando da eliminação, escoe com água abundante para evitar a acumulação de azida.

Colheita e armazenamento de amostras

1. Não podem ser utilizadas amostras hemolisadas, uma vez que os glóbulos vermelhos contêm ALT.⁷
2. A ALT no soro mantém-se estável durante três dias à temperatura ambiente (15-30°C), durante sete dias refrigerada (2-8°C) e durante trinta dias congelada (-20°C).⁷

Interferências

1. Diversos medicamentos e substâncias afetam a atividade da ALT. Consulte Young, et al.⁸
2. Verificou-se que a bilirrubina até pelo menos 30 mg/dL e a hemoglobina até pelo menos 400 mg/dL têm um efeito negligenciável neste procedimento.

Materiais fornecidos

Reagentes R1 e R2 de ALT (SGPT)

Materiais necessários, mas não fornecidos

1. Analisador Yumizen C230/Yumizen C240
2. Yumizen C230/Yumizen C240
3. Controlo de química, número de catálogo C7592-100

Parâmetros de teste

Teste:	ALT	Química:	ALT
N.º de química:	202	Nome em letra de imprensa:	ALT
Tipo de reação:	Cinética	Direção de reação:	Negativo
Onda pri.:	340 nm	Onda sec:	405 nm
Decimal.:	0	Tipo de amostra:	Soro
Tempo de branco:		Tempo de reação:	3 11
Unidade:	U/L	Tempo de incubação:	3

	Vol. de amostra	Aspirado	Diluído	Vol. de reagente	Diluído	
Padrão:	9	uL	uL	R1: 180	uL	uL
Diminuído:		uL	uL	R2: 45	u/L	u/L
Aumentado:		uL	uL			

Intervalo de linearidade (padrão):	0-300	Limite de linearidade:	0.3
Intervalo de linearidade (diminuído):		Redução de substrato:	5000
Intervalo de linearidade (aumentado):		Abs. de branco misturado:	- 40000 40000
Abs. de branco R1:	- 40000 40000	Estabilidade no equipamento:	30
Resposta de branco	- 40000 40000	Limite de alarme do reagente:	5
Química dupla:			

Verificação prozona:		
Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Utilizar resultado qualitativo:	Intervalo:	Referência:
---------------------------------	------------	-------------

Desvio de declive:			
Declive	Desvio	Unidade	
1	0	U/L	

Pré-tratamento:	
Vol. de amostra pré-tratada:	Vol. de reagente pré-tratado: uL

Intervalo de ref.:					
Tipo de amostra:	Sexo:	Intervalo de idades:	Intervalo de ref.:	Intervalo crítico:	Unidade:

Parâmetros de configuração da calibração

Quím:	ALT				
Definição da calibração		Calibrador	Conc.	Pos	N.º do lote
Modelo matemático:	Fator K	Água	0,0	W	
Fator:	4700000				
Réplicas:	2				
Limites de aceitação					
Tempo cal:	24 h				
Dif declive:	DP:				
Sensibilidade:	Repetibilidade	* Definida pelo utilizador			
Deter coef:					
Calib. auto.	<input type="checkbox"/> Tempo cal				

Conjunto de Reagentes de ALT (SGPT) Pointe

Limitações

1. As amostras turvas ou altamente ictericas podem fornecer leituras cuja absorvância inicial excede as capacidades do espectrofotômetro. É possível obter resultados mais precisos utilizando 0,05 mL (50 uL) de amostra e multiplicando o resultado final por dois.
2. As amostras com valores superiores a 500 IU/L devem ser diluídas com solução salina a 1:1, novamente submetidas a ensaio e os resultados devem ser multiplicados por dois.

Calibração

O procedimento é padronizado através da capacidade de absorção milimolar do NADH considerada como 6,22 a 340 nm nas condições de teste descritas.

Cálculo (exemplo)

Uma Unidade internacional (IU/L) é definida como a quantidade de enzima que catalisa a transformação de um micromole de substrato por minuto em condições especificadas.

$$\text{ALT (IU/L)} = \frac{\Delta\text{Abs./Min.} \times 1,10 \times 1000}{6,22 \times 0,10 \times 1,0} = \Delta\text{Abs./min.} \times 1768$$

Em que $\Delta\text{Abs./Min.}$ = Alteração média na absorvância por minuto
1000 = Conversão de IU/mL em IU/L
1,10 = Volume de reação total (mL)
6,22 = Capacidade de absorção milimolar de NADH
0,10 = Volume de amostra (mL)
1,0 = Trajetória da luz em cm

Exemplo: Se a alteração média na absorvância por minuto = 0,12, então $0,12 \times 1768 = 212$ IU/L

NOTA: Se os parâmetros de teste forem alterados, o fator tem de ser recalculado utilizando a fórmula acima indicada.

Unidades do SI: Para converter em unidades do SI (nkat/L), multiplique a IU/L por 16,67.

Controlo da qualidade

A validade da reação deve ser monitorizada utilizando soros de controlo com valores de ALT (SGPT) normais e anormais conhecidos. Estes controlos devem ser efetuados, pelo menos, em cada turno em que sejam realizados ensaios de ALT (SGPT). Recomenda-se que cada laboratório estabeleça a sua própria frequência de determinação de controlo. Os requisitos de controlo de qualidade devem ser executados em conformidade com os requisitos de acreditação e regulamentação local, estatal e/ou federal.

Valores esperados⁹

4 a 24 IU/L (30°C)
4 a 36 IU/L (37°C)

Uma vez que os valores esperados são afetados pela idade, sexo, dieta e localização geográfica, cada laboratório é vivamente incentivado a estabelecer o seu próprio intervalo de referência para este procedimento.

Desempenho

1. Linearidade: 0-500 IU/L.
2. Comparação: Foi realizado um estudo entre o analisador da série Yumizen 200 e um analisador semelhante utilizando este método, tendo resultado num coeficiente de correlação de 0,999 e uma equação de regressão de $y=0,94x + 5,8$. (n=33).
3. Precisão: Foram realizados estudos de precisão utilizando o analisador da série Yumizen 200 na sequência de uma modificação das diretrizes constantes do documento NCCLS EP5-T2.¹⁰

Na mesma determinação (n=20)

Média	D.P.	% C.V.
35,4	1,3	3,6
89,5	1,1	1,3

Entre dias (n=20)










Média	D.P.	% C.V.
41,8	1,5	3,6
111,9	2,6	2,3





4. Sensibilidade: A sensibilidade deste reagente foi investigada através da leitura das alterações na absorvância a 340 nm para uma amostra de solução salina e soros com concentrações conhecidas. Foram realizadas dez réplicas. Os resultados desta investigação indicaram que, no analisador utilizado, o reagente de ALT (SGPT) exibiu pouco ou nenhum desvio de reagente numa amostra zero. Nas condições de reação descritas, 1 IU/L de atividade de ALT resulta numa $\Delta\text{Abs./Min.}$ de 0,0004.

Bibliografia

1. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders co., p 674 & 675 (1982).
2. Henley, K.S., Pollard, H.M., J. Lab. Clin. Med. 46:785 (1955).
3. Wroblewski, F., La Due, J.S., Proc. Soc. Data Biol. Med. 91:569 (1956).
4. Henry, R.J., et al, Am. J. Clin. Path. 34:381 (1960).
5. The Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology, Scand. J. Clin. Lab. Invest 32:291 (1974).
6. Clinica Chimica Acta 105:145F-172F (1980).
7. Henry, R.J., Clinical Chemistry: Principles and Technics, Harper & Row, NY, P522 (1968).
8. Young, D.S., et al, Clin. Chem. 21:1D (1975).
9. Henry, J.B., Clinical Diagnosis & Management by Laboratory Methods, W.B. Saunders Co., Philadelphia, P1437 (1984).
10. NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).


Legenda dos símbolos

 Utilizar até (AAAA-MM-DD)	 Lote e código
 Número de catálogo	 Fabricante
 Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	 Limite de temperatura
 Consulte as instruções de utilização	Rx Only: Utilização apenas mediante receita médica
 Marcação CE	 Representante autorizado na Comunidade Europeia

 12-A7526-100  Fabricado por HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand 5449 Research Drive Canton, MI 48188  

Fabricado por HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Representante Europeu Autorizado:
Obelis s.a.
Boulevard Général Wahis 53
1030 Brussels, BÉLGICA
Tel.: (32)2.732.59.54 Fax: (32)2.732.60.03 e-mail: mail@obelis.net



Certificada para executar reagentes

Os reagentes Pointe são certificados para serem fabricados de acordo com parâmetros especificados. Qualquer produto de reagente Pointe que não cumpra as especificações até à data de validade indicada será regularizado imediatamente sem quaisquer custos.