

TRANSAMINASE ALT (TGP) CINÉTICA

K049

LÍQUIDO ESTÁVEL

INSTRUÇÕES DE USO



FINALIDADE

Método para a determinação da alanina amino transferase (ALT ou TGP). Teste cinético, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia : Cinética (UV)

Determinação cinética (UV) da AST, segundo a reação:

L - Alanina + α - Cetoglutarato \xrightarrow{ALT} Piruvato + L - Glutamato

Piruvato + NADH + H⁺ \xrightarrow{LDH} L - Lactato + NAD⁺

A ALT catalisa a transferência do grupamento amina da alanina para α - cetoglutarato, levando à formação de Piruvato e Glutamato. O piruvato em presença do LDH reage com o NADH, reduzindo-se a Lactato e o NADH oxida-se a NAD⁺. A velocidade de oxidação é proporcional à atividade da ALT na amostra.

REAGENTES

Número 1 - Substrato - conservar entre 2 e 8 °C. Contém:

alfa - cetoglutarato, LDH, L-alanina, cloreto de sódio, tampão Hepes, pH 7,8, azida sódica e estabilizante.

Número 2 - Coenzima - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém:

NADH, azida sódica e estabilizante.

APRESENTAÇÕES

Apresentação	K049-1	K049-2	K049-3	K049-4
Reagentes	Volume (mL)			
Reagente 1	54	27	2 x 27	4 x 27
Reagente 2	6	3	2 x 3	4 x 3

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Espectrofotômetro termostatizado, pipetas, cronômetro, tubos de ensaio. Encontram-se no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8 °C. O transporte, em temperaturas entre 15 e 30 °C, não deverá exceder a 72 (setenta e duas) horas. **Não congelar.** Manter ao abrigo da luz e evitar umidade.

CUIDADOS ESPECIAIS

- 1 - Somente para uso diagnóstico *in vitro*;
- 2 - Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos;
- 3 - A água utilizada na limpeza do material e para o preparo do Reagente de Trabalho deve ser recente e isenta de agentes contaminantes;
- 4 - É importante, para o bom desempenho do teste, um rigoroso controle de tempo, temperatura e pH;
- 5 - O substrato contém azida sódica, devendo ser manuseado com cuidado;
- 6 - Amostras lipêmicas e ictericas aumentam a absorvância em 340 nm. Neste caso, deve-se diluir a amostra 1:2 com solução salina. Multiplicar o resultado por 2;
- 7 - Leituras de absorvância inferiores a 0,800 do Reagente de Trabalho, indicam perda do mesmo. Neste caso, não utilizar o reagente;
- 8 - O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se os critérios de biossegurança, de acordo com a legislação vigente.

AMOSTRAS

Soro ou plasma colhido com heparina, obtido livre de hemólise. A enzima sérica é estável durante 03 dias entre 2 e 8 °C.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

Preparo do Reagente de Trabalho

Misturar 9 partes do Reagente N° 1 com uma parte do Reagente N° 2. O Reagente de Trabalho é estável 72 horas entre 15 e 30 °C e 14 dias entre 2 e 8 °C.

TÉCNICA

Condições de reação: é condição indispensável o uso de cubeta termostatizada a 37 °C, caminho óptico de 1cm e leitura em 340 nm (334 - 365). Adicionar 100 μ L de amostra a 1,0 mL do Reagente de Trabalho, misturar e transferir para cubeta termostatizada à 37 °C e esperar 1 minuto. Fazer a leitura inicial, disparando simultaneamente o cronômetro. Repetir as leituras após 1, 2 e 3 minutos. Calcular a média das diferenças de absorvância por minuto ($\Delta A/\text{min.}$) e utilizar para cálculo do resultado.

DESCRIÇÃO DOS CÁLCULOS

ALT (U/L) 340 nm = $\Delta A/\text{min.}$ x 1746

334 nm = $\Delta A/\text{min.}$ x 1780

365 nm = $\Delta A/\text{min.}$ x 3235

Os resultados serão expressos em U/L.

Para uma variação média na absorvância $\geq 0,15$ em 340 e 334 nm ou $\geq 0,080$ em 365 nm, repetir a determinação, diluindo a amostra com NaCl 0,85%. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

O método cinético baseia-se na absorvidade molar. Por essa razão, as leituras devem ser realizadas em um espectrofotômetro que cumpra as seguintes condições:

Comprimento de onda 340 nm

Semi-trajetória da banda de passagem 10 nm

Luz espúria menor que 0,5%

Cubeta de 1cm termostatizada

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens. Deve ser de 5% o erro máximo permitido em relação aos valores pré-estabelecidos para os controles.

VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores de referência, em U/L, para o presente método, foram obtidos através da determinação de ALT em populações sadias do sexo masculino e feminino.

Soro ou Plasma: 10 a 40 U/L, a 37 °C

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

DESEMPENHO DO PRODUTO

CONTROLE DE QUALIDADE

Exatidão

RECUPERAÇÃO

A análise de recuperação foi feita com 05 determinações de amostras. As exatidões foram calculadas e se encontraram em boa concordância com os valores de referência, obtendo uma recuperação entre 95% e 102%.

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS E ESPECIFICIDADE METODOLÓGICA

O Kit ALT Cinético Bioclin foi comparado com outro método para dosagem de alanina amino transferase comercialmente disponível. Foram realizadas 07 análises e os resultados foram avaliados. Foi obtida a equação linear $Y = 0,9329x - 0,2038$, com coeficiente de correlação igual a 0,9854. Com estes resultados pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

Precisão

REPETIBILIDADE

A repetibilidade refere-se a 20 determinações sucessivas de alanina amino transferase, utilizando-se 3 amostras com concentrações diferentes, encontrando-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (U/L)	16,65	7,10	21,15
Desvio Padrão (U/L)	0,59	0,31	0,59
Coefficiente de Variação (%)	3,53	4,34	2,78

REPRODUTIBILIDADE

A reprodutibilidade refere-se 20 determinações de alanina amino transferase, em 3 dias diferentes, com 3 amostras de concentrações diferentes, encontrando-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (U/L)	16,37	7,35	20,60
Desvio Padrão (U/L)	0,67	0,43	0,95
Coefficiente de Variação (%)	4,10	5,89	4,62

SENSIBILIDADE

A sensibilidade do Kit ALT Cinético foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra isenta de alanina amino transferase. A média encontrada foi de 1,6710 U/L, com desvio padrão de 0,0944 U/L. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde a média mais três vezes o desvio padrão, sendo igual a 1,9543 U/L.

Linearidade

A reação é linear até a concentração de 260 U/L. Para amostras com valores acima de 260 U/L recomenda-se diluir a amostra com Cloreto de Sódio 0,85%, repetir a dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

O aumento da atividade das enzimas aspartato amino transferase - AST (de localização citomitocondrial) e alanina amino transferase - ALT (de origem citoplasmática) reflete alterações de vários tecidos.

A maior atividade da ALT está localizada no tecido hepático. Menores atividades ocorrem no músculo esquelético, coração, rins e pâncreas. Sua atividade encontra-se aumentada na hepatite viral e tóxica (30 - 50 ou 100 vezes os valores de referência - VR), bem como em outras doenças hepáticas (DH), associadas à necrose hepática. Nas DH crônicas associadas à necrose celular, devido ao aumento da liberação da AST - mitocondrial, pode haver inversão da relação ALT/AST. Ocorre, ainda, aumento de seus níveis na mononucleose infecciosa e nas colestases intra e extra - hepáticas.

NÚMERO DE TESTES

Apresentação 1

60 Testes/100 μ L de amostra/1 mL de Reagente

120 Testes/50 μ L de amostra/500 μ L de Reagente

Apresentação 2

30 Testes/100 μ L de amostra/1 mL de Reagente

60 Testes/50 μ L de amostra/500 μ L de Reagente

Apresentação 3

60 Testes/100 μ L de amostra/1 mL de Reagente

120 Testes/50 μ L de amostra/500 μ L de Reagente

Apresentação 4

120 Testes/100 μ L de amostra/1 mL de Reagente

240 Testes/50 μ L de amostra/500 μ L de Reagente

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - The Committee on Enzymes of the Scandinavian society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology Scand J. Clin Lab Invest., 1974, 33, 291 - 306.
- 2 - BERGMEYER, Bowers and cols., Clin. Chim., Acta., 1.976, 70, 19 - 42, 1977, 21 - 22.
- 3 - BERGMEYER, HV.; SCHEIBE, P.; WAHLEFELD, A.W., Clin., Chem., 1.978, 24, 58 - 73.
- 4 - Expert Panel on Enzymes of the International Federation of Clinical Chemistry : Part 3. Revised IFCC Method for Aspartate Aminotransferase, Clin., Chem., 1.978, 24, 720.
- 5 - Scandinavian Committee on Enzymes Scand J. Clin Lab Invest, 1.981, 41, 107 - 116.
- 6 - BURTIS; CARL, A.;ASHWOOD; EDWARD, R., Clin. Chem., Tietz Text Book of, 2a ed., 1.986, 788 - 797.
- 7 - PESCE, A., J.; KAPLAN, L., A., Methods in Clin. Chem., 1.987.

GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes **Bioclin** são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.

DADOS DO FABRICANTE

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca

CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil

Tel.: (31) 3439.5454 - Fax (31) 3439.5455

e-mail bioclin@bioclin.com.br

CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente Tel.: 0800 0315454.

e-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro do Kit de Transaminase ALT (TGP) Cinética: na ANVISA: 10269360145.

Revisão: Maio/11