

ALT - GPT Cepa – Cinético UV

Método

Cinético UV-U/L - 37°C (IFCC)

Finalidade

Kit para determinação da Alanina amino transferase (ALT) em amostras de soro.

Princípio do método

A Alanina amino transferase catalisa a transferência do grupo amina da alanina para o 2-oxoglutarato com formação de glutamato e piruvato. Este é reduzido a lactato pela ação da desidrogenase láctica (LDH). A concentração catalítica é determinada a partir da velocidade de extinção do NADH, medida espectrofotometricamente em 340 nm.

Reagentes fornecidos

1. Tampão: Tris 150 mmol/L, L-alanina 750 mmol/L, desidrogenase láctica >1350 U/L. PH 7,30 (1x80 mL).
2. Coenzima: NADH 1,3 mmol/L, 2-oxoglutarato 75 mmol/Hidróxido de sódio 148 mmol/L, azida sódica 9,5g/L. Não pipetar com a boca. NOCIVO (1x20 mL).

Condições de uso e armazenagem

A data de validade aparece no rótulo da embalagem. Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.

Todos os reagentes devem ser mantidos sob refrigeração na faixa de 2 a 8°C. Manter ao abrigo da luz. Os reagentes devem permanecer fora do refrigerador somente o tempo necessário para as dosagens.

Insumos e equipamentos necessários não fornecidos

- Água destilada ou deionizada
- Banho-maria
- Cronômetro
- Espectrofotômetro
- Pipetas manuais ou automáticas
- Ponteiros descartáveis
- Vidraria

Precauções e cuidados especiais

- Somente para uso diagnóstico "in vitro".
- Não misturar ou trocar lotes de reagentes diferentes.
- Evitar contaminação microbiana dos reagentes e não utilizar reagentes que tenham sinais de contaminação ou precipitação.
- Caso haja contato com quaisquer reagentes lavar a área afetada com água em profusão. Em caso de ingestão de reagentes procurar auxílio médico imediato munidos desta instrução de uso.
- Utilizar equipamentos de proteção individual segundo normas de biossegurança.
- A água (destilada ou deionizada) utilizada na limpeza do material ou nos procedimentos deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- Certificar-se das condições adequadas de funcionamento dos equipamentos de análise.
- O descarte do material utilizado deve ser feito segundo os critérios de biossegurança.
- Lavar as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.

Amostra biológica

- Soro

A alanina amino transferase em soro é estável durante 7 dias quando mantida entre

2 a 8°C. O uso de anticoagulantes interfere na dosagem.

Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante. Usar luvas descartáveis durante a manipulação do material biológico. As amostras devem ser descartadas, após o uso, em recipientes específicos para este fim. Não dispensar em coletores de lixo comuns ou nas redes de água e esgoto.

Procedimento

Ler, cuidadosamente, as instruções desta bula

Preparo dos reagentes:

Verter o conteúdo do frasco do Reagente nº 2 (Coenzima) no frasco de Reagente nº 1 (Tampão) e homogeneizar bem. É recomendável a transferência de parte do homogeneizado para o frasco de Reagente nº 2 (Coenzima), com o objetivo de se obter a diluição completa do reagente contido no mesmo; após homogeneizar, verter novamente o conteúdo no frasco de Reagente nº 1 (Tampão). Rotular como Reagente de Trabalho. Este reagente é estável, sob refrigeração, na faixa de 2 a 8°C, durante 2 meses, se mantido fora do refrigerador somente o tempo necessário para as dosagens.

Obs.: podem ser preparados volumes menores de reagente de trabalho, desde que respeitada a proporção de 1mL de Coenzima + 4mL de Tampão.

Dosagem:

1. Permitir que reagentes e amostras atinjam a temperatura ambiente;
2. Pré-aquecer o espectrofotômetro e o reagente de trabalho a 37°C;
- Obs.: As determinações podem ser efetuadas também a 30°C. O fator de correlação utilizado é: 37/30°C=1,39
3. Acertar o zero do espectrofotômetro utilizando água destilada ou deionizada.
4. Pipetar em uma cubeta termostatizada a 37°C como a seguir:

Método	Macro	Micro
Amostra	50 µL	25 µL
Reagente de Trabalho	1,0 mL	0,5 mL

5. Homogeneizar rapidamente e inserir em um porta cubetas termostatizado a 37°C.
6. Ler e registrar a absorbância inicial (A0), em 340 nm e acionar o cronômetro;
7. Realizar novas leituras (A1, A2 e A3), em intervalos de 1 minuto durante 3 minutos;
8. Comprovar que as diferenças entre as absorbâncias sejam sensivelmente iguais.
9. Calcular a média das diferenças das absorbâncias (ΔA/min), que será usada nos procedimentos de cálculo.

$$DA/min = \frac{(A1-A0) + (A2-A1) + (A3-A2)}{3}$$

Cálculos

Considerando que o coeficiente de absorção molar do NADH é 6300 em 340 nm, se deduzem as seguintes fórmulas para calcular a concentração catalítica.

$$(37^{\circ}\text{C}) \quad \Delta A/\text{min} \times 3333 = \text{U/L} / 55,55 = \mu\text{Kat/L}$$

Unidades SI: ALT/GPT µKat/L (37°C)= 0,013×(-55,55) = 0,72 µKat/L

Obs.: estes valores se aplicam à temperatura de trabalho em 37°C. Quando utilizar a temperatura de 30°C, multiplicar o resultado pelo fator de correlação 1,39.

Linearidade

A reação é linear até 500 U/L (8,33 µKat/L) em 340 nm. Para valores acima de 500 U/L, diluir a amostra com solução de NaCl 0,85% e repetir a dosagem. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

Valores de referência

- (37°C) até 41 U/L= 0,70 µKat/L*

*Estes valores são dados apenas a título orientativo. É recomendável que cada laboratório estabeleça sua própria faixa de valores de referência.

Controle de qualidade

O laboratório deve ter como prática de rotina o uso de soros controle comerciais. Preferivelmente deve participar de programas de controle externo de qualidade, a exemplo daqueles oferecidos pela SBAC e SBPC.

Dados estatísticos de desempenho do teste

Recuperação : 102,2%.

Coeficiente de variação intra-ensaio (repetitividade): A realização de 20 determinações de uma mesma amostra com valor dentro da faixa de referência, mostrou um coeficiente de variação igual a 1,8%. O mesmo procedimento para valores elevados mostrou um coeficiente de variação igual a 2,8%

Coeficiente de variação inter-ensaio (reprodutibilidade) : A realização de 20 determinações de uma mesma amostra com valor elevado, analisada em dias diferentes, mostrou um coeficiente de variação igual a 2,7%.

Especificidade analítica: A comparação com método similar validado (que também utiliza a metodologia enzimática no ultravioleta) demonstrou um coeficiente de correlação, r, igual a 0,986 a partir da análise de amostras aleatórias oriundas de pacientes de ambulatório. A equação de regressão obtida foi : y = 1,019x + 1,33

Sensibilidade analítica: O método apresenta uma variação de absorbância em 340 nm igual a em cada acréscimo de 1U/L na concentração de ALT. O limite de detecção do método é igual a 1,6 U/L.

Interferentes

Piruvato elevado nas amostras consome o NADH no período de incubação, reduzindo o intervalo útil da determinação.

Referências bibliográficas

- 1 IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes.
2. J Clin chem Clin Biochem 1986; 24:481-495

Apresentação

Número de testes Macro: 100

Número de testes Micro: 200

Automação

Os reagentes podem ser utilizados em analisadores automáticos. Vide programação no verso ou solicite informações ao seu distribuidor.

Dados do fabricante

MBiolog Diagnósticos Ltda

Rua Gama, 337 – Vila Paris – Contagem – MG – CEP 32372-120

Resp. Técnico: Fabrício Galvão de Brito – CRF-MG 9587

SAC - Serviço de Atendimento ao Cliente

 (31) 3507-0707

 sac@mbiolog.com.br

COBAS MIRA/ PLUS®	
GENERAL	
MEASUREMENT MODE	ABSORB
REACTION MODE	R-S - 1
CALIBRATION MODE	FACTOR - 1
REAGENT BLANK	REAG/DIL - 2
CLEANER	NO - 1
WAVELENGTH	340 nm - 1
DECIMAL POSITION	0 (U/L)
UNIT	21 (U/L)
ANALYSIS	
POST. DIL FACTOR	5
CONC. FACTOR	NO - SPACE
SAMPLE CYCLE	1
VOLUME	10 µL
DILUTION NAME	H2O - 0
VOLUME	20 µL
REAGENT CYCLE	1
VOLUME	200 µL
CALCULATION	
SAMPLE LIMIT	NO - SPACE
REACTION DIRECTION	DECREASE - 2
CHECK	ON - 1
CONVERSION FACTOR	1
OFFSET / TEST RANGE LOW	0 / 0
HIGH	500 U/L
NORMAL RANGE LOW	0
HIGH	41
NUMBER OF STEPS	1
CALCULATION STEP A	KINSEARCH - 3
READING FIRST	2
LAST	10
REACTION LIMIT	NO - SPACE
CALIBRATION	
CALIBRATION INTERVAL	ON REOUEST - 3
TIME	NO - SPACE
REAGENTE RANGE LOW	NO - SPACE
HIGH	NO - SPACE
BLANK RANGE LOW	-0,20 ÅA
HIGH	0,20 ÅA
FACTOR	5776
Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.	

EXPRESS 550/PLUS®			
TEST NAME: ALT		TEST: ALT	
TEST BAR CODE: IPU*			
TEST TYPE: KINETIC		CURVE TYPE:: ENZ. LINEAR	
UNITS: U/L		Nº OF DECIMAL PLACE: 0	
PRIMARY WAVELENGTH: 340		SECONDARY WAVELENGTH: 380	
READ TIME / INTERVAL: 60		SAMPLE BLANK: 380	
FACTOR: 3333			
CALIBRATION INTERVAL: 180 h		Nº OF REPLICATES: 2	
Nº OF CALIBRATOR: IPU*			
LOW BLANK A LIMIT: 0		HIGH BLANK A LIMIT: 2000	
LOW A LIMIT: 0		HIGH A LIMIT: 2500	
LOW NORMAL: 0		HIGH NORMAL: 41	
LINEARITY LIMIT: 500		CURVE S.D. LIMIT: 8	
SAMPLE VOLUME: 15 µL		TEST: ALT	
SAMPLE DILUENTE BOTTLE TYPE: *		PREDILUTION RATIO: 1	
REAGENT DILUENTE BOTTLE TYPE:*			
REAGENT DILUENT:	VOL. RAG.	BD DIL	LAG TIME BT
REAGENT 1:	300	60	*
IPU: Inserido Pelo Usuário			
*: Entre com o tipo de frasco utilizado. Plástico ou Vidro			
Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.			

BIO 2000® & LABQUEST®			
MODO	CIN	INT. CIN	60
WLI	340	Nº DE INTERV	3
WL2		ÅÅ LIMIT	0,2
TEMP?	37°C	% LIM LIN	20
VOL ASP	400	DIR	DECR
RETARDO	60	ABS REAT MIN	0,8
FATOR	3383	ABS REAT MIN	1,8
UNDIDAD	U/L	VR/VN MIN	0
DECIMALS	0	VR/VN MAX	42
IMPRESSÃO	EXT		
Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.			

RA-50®	
TEMPERATURA	37 °C
VOLUME DA AMOSTRA	50 µL
VOLUME DO REAGENTE	1000 µL
FATOR	3333
VALOR NORMAL	0 - 41
TIPO DE REAÇÃO	CINÉTICA ENZIMÁTICA
UNIDADES	U/L
COMPRIMENTO DE ONDA	340 nm
INTERVALO DE TEMPO	60
ESTABILIZAÇÃO	60
NÚMERO DE LEITURAS	3
INCLINAÇÃO DA REAÇÃO	DECRESCENTE
LINEARIDADE	330
ABS. MIN. INICIAL	0,8
LINEARIDADE	500
DESVIO	10,00%
PRECISÃO DO RESULTADO	1,0 U/L
VOLUME DE ASPIRAÇÃO	400 µL
Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.	
RA-100®	
TEST Nº / TEST NAME	ALT
UNITS	U/L
LOW NORMAL	0
HIGH NORMAL	41
FACTOR	-3344
STAND. CON	-
TYPE	2
WAVELENGTH	340
SAMPLE VOLUME	15
SAMPLE PRIME VOL.	2,5
SAMPLE FLUSH VOL.	250
REAGENT. VOL	300
REAG. PRIME VOL.	12,5
REAG. FLUSH VOL.	300
INCUBATION TIME	70
READ TIME	140
REAG. ABS LOW	0,9
REAG. ABS HIGH	1,7
REACT. ABS LOW	0,5
REACT. ABS HIGH	2
MAX LIN RSLT	500
TEMPERATURA	37 °C
Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.	

BTS-310®	
LOCALIDAD	IPU*
NOMBRE TECNICA	ALT
UNIDADES	2
MODO DE CÁLCULO	CIN
MODO DE LECTURA	MONO
FILTRO REFERENCIA	-
FILTRO LECTURA	340
FATOR	3333
TIEMPO ESTBILIDAD	1
TIEMPO INCUBACION	60
TIEMPO INTERVALO	60
NÚMERO DE INTERVALOS	3
VOLUME DE ASPIRAÇÃO	400
TIPO DE REACION	DECRESCENTE
ESTANDAR / N° ESTANDARTES	-
DUP. ESTANDARTES	-
DUP. MUESTRAS	-
ESCALAS ABS / CON.	-
FACTOR DILUCION	-
TEMPERATURA	37
Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.	
ABBOT VP®	
NAME INDEX – TES NAME	ALT
TEMPERATURE	37°C
FILTER ID CODE	43 (340/380)
UNITS	07 (U/L)
DILUTION 1:	26 (1:26)
REV. TIME	2
AUX. DISP	NO
FRR	YES
REACTION UP	NO
STANDARDS	NO
REAG. BLANK	YES
ASSAY FACTOR	1300
END. POINT	NO
BGN PRT REVOVUTION	3
PRT REVOLUTION	1
INITIAL ABS	0,9
UP LIMIT	NO
SUBSTRAT DEPLECTION	NO
REAGENT DEGRADATION	30
Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.	
Todos os equipamentos são marcas registradas de seus fabricantes	