

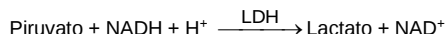
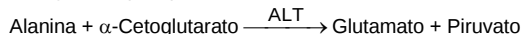
Determinação quantitativa de alanina aminotransferase GPT (ALT)

IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCÍPIO DO METODO

A alanina aminotransferase (ALT) inicialmente chamada de transaminase glutâmico pirúvica (GPT) cataliza a transferência reversível de um grupo amino da alanina al α -cetoglutarato com formação de glutamato e piruvato. O piruvato produzido é reduzido a lactato na presença de lactato desidrogenase (LDH) e NADH:



A velocidade de diminuição da concentração de NADH no meio, determinado fotométricamente, é proporcional à concentração catalítica de ALT na amostra testada¹.

SIGNIFICADO CLINICO

A ALT é uma enzima intracelular, que se encontra principalmente nas células do fígado e do rim.

A sua melhor aplicação é no diagnóstico das patologias hepáticas.

São observados níveis elevados em patologias hepáticas como a hepatite, patologias dos músculos e traumatismos.

Quando utilizada em conjunto com a AST ajuda no diagnóstico de enfartes de miocárdio, já que o valor da ALT se mantém dentro dos limites normais e aumenta nos níveis de AST^{1,4,5}.

O diagnóstico clínico deve ser feito mediante todos os dados clínicos e de laboratório.

REAGENTES

R 1	TRIS pH 7,8	100 mmol/L
Tampão	L-Alanina	500 mmol/L
R 2	NADH	0,18 mmol/L
Substrato	Lactato desidrogenase (LDH)	1200 U/L
	α -Cetoglutarato	15 mmol/L

PREPARAÇÃO

Reagente de trabalho (RT):

Ref: 1001170 Dissolver (→) um comprimido de R2 Substrato num frasco de R1 tampão.

Ref: 1001171 Dissolver (→) um comprimido de R2 Substrato em 15 mL de R1.

Ref: 1001172 Dissolver (→) um comprimido de R2 Substrato em 50 mL de R1.

Tapar e misturar suavemente até à dissolução do conteúdo.

Estabilidade: 21 dias a 2-8°C ou 72 horas a temperatura ambiente (15-25°C).

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis, até ao final do prazo de validade indicado no rótulo, quando mantidos nos frascos bem fechados, a 2-8°C, protegidos da luz e evitando a sua contaminação.

Não usar os comprimidos se eles estiverem fragmentados.

Não usar reagentes após a data indicada.

Indicadores de deterioração dos reagentes:

- Presença de partículas e turvação.
- Absorvância do Branco a 340 nm < 1,00.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro ou analisador para leituras a 340 nm.
- Banho termostável a 25°C, 30°C ou 37°C ($\pm$ 0,1°C)
- Cuvetes de 1,0 cm de passo de luz.
- Equipamento habitual de laboratório.

AMOSTRAS

Soro ou plasma¹. Estabilidade da amostra: 7 dias a 2-8°C.

PROCEDIMENTO

- Condições da análise:
Comprimento de onda: 340 nm
Cuvete: 1 cm passo de luz
Temperatura constante 25°C / 30°C / 37°C
- Ajustar o espectrofotómetro a zero com água destilada ou ar.
- Pipetar numa cuvette:

RT (mL)	1,0
Amostra (μ L)	100
- Misturar, incubar 1 minuto.
- Ler a absorvância (A) inicial da amostra, pôr o cronómetro a funcionar e ler a absorvância a cada minuto durante 3 minutos.
- Calcular a média do aumento da absorvância por minuto ($\Delta A/\text{min}$).

CÁLCULOS

$$\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{U/L de ALT}$$

Unidades: A unidade internacional (UI) é a quantidade de enzima que converte 1 μ mol de substrato por minuto, em condições standardizadas. A concentração é expressa em unidades por litro (U/L).

Factores de conversão de temperaturas

Os resultados podem ser transformados a outras temperaturas multiplicando por:

Temperatura de medição	Factor Conversão a		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,32	1,82
30°C	0,76	1,00	1,39
37°C	0,55	0,72	1,00

CONTROLO DE QUALIDADE

É conveniente analisar juntamente com as amostras, os soros controlo valorizados: SPINTROL H Normal e Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Se os valores determinados estiverem fora do intervalo de tolerância, verificar o equipamento, os reagentes e o calibrador.

Cada laboratório deve dispor do seu próprio Controlo de Qualidade e estabelecer correcções caso os controlos não cumpram com as tolerâncias.

VALORES DE REFERÊNCIA^{4,5}

	25°C	30°C	37°C
Homens	Até 22 U/L	29 U/L	40 U/L
Mulheres	Até 18 U/L	22 U/L	32 U/L

Em recém-nascidos normais foram descritos valores de referência até ao dobro do dos adultos, devido à sua imaturidade hepática, valores que normalizam aproximadamente aos três meses.

Estes valores são orientativos. É recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

CARACTERÍSTICAS DO METODO

Intervalo de medida: Desde o limite de detecção 0 U/L até ao limite de linearidade 400 U/L.

Se a concentração da amostra for superior ao limite de linearidade, diluir 1/10 com NaCl 9 g/L e multiplicar o resultado final por 10.

Precisão:

	Intrasérie (n= 20)		Intersérie (n= 20)	
Média (U/L)	42	112	41	111
DP	0,47	0,96	0,79	2,21
CV (%)	1,12	0,85	1,90	1,98

Sensibilidade analítica: 1 U/L = 0,000503 ΔA / min.

Exactidão: Os reagentes de SPINREACT (y) não mostram diferenças sistemáticas significativas quando comparando com outros reagentes comerciais (x).

Os resultados obtidos com 50 amostras foram os seguintes:

Coefficiente de regressão (r^2): 0,9869.

Equação da recta de regressão: $y = 1,0589x - 0,6075$.

As características do método podem variar segundo o equipamento utilizado.

INTERFERÊNCIAS

Os anticoagulantes de uso corrente como a heparina, EDTA, oxalato ou fluoreto não afectam os resultados. A hemólise interfere com a determinação¹. Foram descritas várias drogas e outras substâncias que interferem na determinação da ALT^{2,3}.

NOTAS

SPINREACT dispõe de instruções detalhadas para a aplicação deste reagente em diferentes equipamentos.

BIBLIOGRAFIA

- Murray R. Alanine aminotransferase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1088-1090.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.
- Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. AACC 1999.
- Tietz N. W. et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC 1995.

APRESENTAÇÃO

Ref: 1001170		R1: 20 x 2 mL , R2: 20 → 2 mL
Ref: 1001171	Cont.	R1: 1 x 150 mL, R2: 10 → 15 mL
Ref: 1001172		R1: 10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL

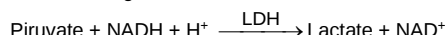
Quantitative determination of alanine aminotransferase GPT (ALT) IVD

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

Alanine aminotransferase (ALT) o Glutamate pyruvate transaminase (GPT) catalyses the reversible transfer of an amino group from alanine to α -ketoglutarate forming glutamate and pyruvate.

The pyruvate produced is reduced to lactate by lactate dehydrogenase (LDH) and NADH:



The rate of decrease in concentration of NADH, measured photometrically, is proportional to the catalytic concentration of ALT present in the sample¹.

CLINICAL SIGNIFICANCE

The ALT is a cellular enzyme, found in highest concentration in liver and kidney. High levels are observed in hepatic disease like hepatitis, diseases of muscles and traumatism, its better application is in the diagnosis of the diseases of the liver.

When they are used in conjunction with AST aid in the diagnosis of infarcts in the myocardium, since the value of the ALT stays within the normal limits in the presence of elevated levels of AST^{1,4,5}.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

R 1	TRIS pH 7,8	100 mmol/L
Buffer	L-Alanine	500 mmol/L
R 2	NADH	0,18 mmol/L
Substrate	Lactate dehydrogenase (LDH)	1200 U/L
	α -Ketoglutarate	15 mmol/L

PREPARATION

Working reagent (WR):

Ref: 1001170 Dissolve (→) one tablet of R2 Substrate in one vial of R1.

Ref: 1001171 Dissolve (→) one tablet of R2 Substrate in 15 mL of R1.

Ref: 1001172 Dissolve (→) one tablet of R2 Substrate in 50 mL of R1.

Cap and mix gently to dissolve contents.

Stability: 21 days at 2-8°C or 72 hours at room temperature (15-25°C).

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use the tablets if appears broken.

Do not use reagents over the expiration date.

Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 340 nm < 1,00.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 340 nm.
- Thermostatic bath at 25°C, 30°C ó 37° C ($\pm$ 0,1°C).
- Matched cuvettes 1,0 cm light path.
- General laboratory equipment.

SAMPLES

Serum or plasma¹: Stability 7 days at 2-8°C.

PROCEDURE

- Assay conditions:
Wavelength: 340 nm
Cuvette: 1 cm light path
Constant temperature 25°C / 30°C / 37°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water or air.
- Pipette into a cuvette:

WR (mL)	1,0
Sample (μ L)	100
- Mix, incubate for 1 minute.
- Read initial absorbance (A) of the sample, start the stopwatch and read absorbances at 1 minute intervals thereafter for 3 minutes.
- Calculate the difference between absorbances and the average absorbance differences per minute ($\Delta A/\text{min}$).

CALCULATIONS

$$\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{U/L of ALT}$$

Units: One international unit (IU) is the amount of enzyme that transforms 1 μ mol of substrate per minute, in standard conditions. The concentration is expressed in units per litre of sample (U/L).

Temperature conversion factors

To correct results to other temperatures multiply by:

Assay temperature	Conversion factor to		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,32	1,82
30°C	0,76	1,00	1,39
37°C	0,55	0,72	1,00

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINTROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and technique for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES^{4,5}

	25°C	30°C	37°C
Men	up to 22 U/L	29 U/L	40 U/L
Women	up to 18 U/L	22 U/L	32 U/L

Normal newborns have been reported to show a reference range of up to double the adult, attributed to the neonate's hepatocytes. These values decline to adult levels by approximately 3 months of age.

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: From *detection limit* of 0 U/L to *linearity limit* of 400 U/L. If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/10 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 10.

Precision:

	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
	Mean (U/L)			
Mean (U/L)	42	112	41	111
SD	0,47	0,96	0,79	2,21
CV (%)	1,12	0,85	1,90	1,98

Sensitivity: 1 U/L = 0,000503 ΔA / min.

Accuracy: Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).

The results obtained using 50 samples were the following:

Correlation coefficient (r^2): 0,9869.

Regression equation: $y = 1,0589x - 0,6075$.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES

Anticoagulants currently in use like heparin, EDTA, oxalate and fluoride do not affect the results. Hemolysis interferes with the assay¹.

A list of drugs and other interfering substances with ALT determination has been reported^{2,3}.

NOTES

SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers.

BIBLIOGRAPHY

- Murray R. Alanine aminotransferase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1088-1090.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PACKAGING

Ref: 1001170		R1: 20 x 2 mL, R2: 20 → 2 mL
Ref: 1001171	Cont.	R1: 1 x 150 mL, R2: 10 → 15 mL
Ref: 1001172		R1: 10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL