

COD 11832 1 x 50 mL	COD 11533 1 x 200 mL	COD 11568 1 x 500 mL	COD 11562 1 x 1 L
CONSERVAR A 2-8°C			
Reagentes para medir a concentração de ALT/GPT Só para uso <i>in vitro</i> nos laboratórios clínicos			

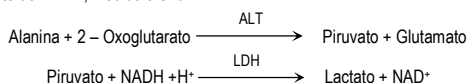
ALANINE AMINOTRANSFERASE (ALT/GPT)



ALANINA AMINOTRANSFERASE (ALT/GPT) IFCC

FUNDAMENTO DO MÉTODO

A alanina aminotransferase (ALT ou GPT) cataliza a transferência do grupo amino da alanina ao 2-oxoglutarato, formando piruvato e glutamato. A concentração catalítica determina-se, seguindo a reação abaixo da desidrogenase láctica (LDH), a partir da velocidade de desaparecimento do NADH, medida a 340 nm^{1,2,3}.



CONTEÚDO

	COD 11832	COD 11533	COD 11568	COD 11562
A. Reagente	1 x 40 mL	1 x 160 mL	1 x 400 mL	1 x 800 mL
B. Reagente	1 x 10 mL	1 x 40 mL	1 x 100 mL	1 x 200 mL

COMPOSIÇÃO

A. Reagente: Tris 150 mmol/L, L-alanina 750 mmol/L, desidrogenase láctica > 1350 U/L, pH 7,3.

B. Reagente: NADH 1,3 mmol/L, 2-oxoglutarato 75 mmol/L, Hidróxido de sódio 148 mmol/L, sódio azide 9,5 g/L.

Nocivo (Xn): R22: Nocivo por ingestão. R31: Em contacto com ácidos liberta gases tóxicos. S28.1: Em caso de contacto com a pele, lavar imediata e abundantemente com água. S45: Em caso de acidente ou mal estar, recorrer imediatamente ao um médico.

CONSERVAÇÃO

Conservar a 2-8°C.

Os reagentes são estáveis até à data de caducidade indicada na etiqueta, desde que se conservem bem fechados e se evite a contaminação durante o seu uso.

Indicações de deterioração:

- Reagentes: Presença de partículas, turvação, absorvância do branco inferior a 1,200 a 340 nm (cuvete de 1 cm).

REAGENTES AUXILIARES

C. Reagente (Cod 11666): Fosfato de piridoxal 10 mmol/L. 5 mL.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Reagente de Trabalho: Transferir o conteúdo do frasco B no frasco A. Agitar suavemente. Se desejar preparar outros volumes, misturar na proporção: 4 mL de Reagente A + 1 mL de Reagente B. Estável 2 meses a 2-8°C.

Reagente de Trabalho com Fosfato de Piridoxal (Nota 1): Misturar na proporção: 10 mL de Reagente de Trabalho + 0,1 mL de Reagente C (Cod 11666). Estável 6 dias a 2-8°C.

EQUIPAMENTO ADICIONAL

- Analisador, espectrofotómetro ou fotómetro com cuvette termostatizada a 30 ou 37°C para leituras a 340 nm.
- Cuvetes de 1 cm de passo de luz.

AMOSTRAS

Soro recolhido mediante procedimentos standard.

A alanina aminotransferase no soro é estável 7 dias a 2-8°C.

PROCEDIMENTO

- Pré-aquecer o Reagente de Trabalho e o equipamento à temperatura de reacção.
- Pipetar numa cuvette: (Nota 2)

Temperatura de reacção	37°C	30°C
Reagente de Trabalho	1,0 mL	1,0 mL
Amostra	50 µL	100 µL

- Misturar e introduzir a cuvette no fotómetro. Ligar o cronómetro.
- Após 1 minuto (Nota 1), apontar a absorvância inicial e efectuar novas leituras em cada minuto durante 3 minutos.
- Calcular a razão do incremento de absorvância por minuto ($\Delta A/\text{min}$).

CÁLCULOS

A concentração de ALT/GPT na amostra calcula-se a partir da seguinte fórmula geral:

$$\Delta A/\text{min} \times \frac{Vt \times 10^6}{\epsilon \times l \times VS} = U/L$$

O coeficiente de absorção molar (ϵ) de NADH a 340 nm é 6.300, o passo de luz (l) é 1 cm, o volume total de reacção (Vt) é 1,05 a 37°C e 1,1 a 30°C, o volume da amostra (Vs) é 0,05 a 37°C e 0,1 a 30°C, e 1 U/L equivale a 0,0166 $\mu\text{kat/L}$. Deduzem-se os seguintes factores para calcular a concentração catalítica:

	37°C	30°C
$\Delta A/\text{min}$	$\times 3333 = U/L$ $\times 55,55 = \mu\text{kat/L}$	$\times 1746 = U/L$ $\times 29,1 = \mu\text{kat/L}$

VALORES DE REFERÊNCIA

Temperatura de reacção	37°C	30°C
Sem fosfato piridoxal, até ^{1,3}	41 U/L = 0,68 $\mu\text{kat/L}$	29 U/L = 0,48 $\mu\text{kat/L}$
Com fosfato piridoxal, até ^{1,2}	65 U/L = 1,08 $\mu\text{kat/L}$	35 U/L = 0,58 $\mu\text{kat/L}$

As concentrações em crianças e recém nascidos são ligeiramente superiores às dos adultos. Encontram-se valores ligeiramente mais elevados nos homens do que nas mulheres.

Estes valores dão-se unicamente a título orientativo; é recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios intervalos de referência.

CONTROLE DE QUALIDADE

Recomenda-se o uso dos Soros Controle de Bioquímica níveis I (Cod. 18005, 18009 e 18042) e II (Cod. 18007, 18010 e 18043) para verificar a funcionalidade do procedimento de medida.

Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio programa de Controle de Qualidade interno, assim como procedimentos de correcção como em casos em que os controlos não cumpram com as tolerâncias aceitáveis.

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

- Limite de detecção: 1,6 U/L = 0,027 $\mu\text{kat/L}$
- Limite de linearidade: 500 U/L = 8,33 $\mu\text{kat/L}$. Quando se obtêm valores superiores, diluir a amostra 1/10 com água destilada e repetir a medição.
- Repetibilidade (intraensaio):

Concentração média	CV	n
43 U/L = 0,72 $\mu\text{kat/L}$	1,8 %	20
192 U/L = 3,2 $\mu\text{kat/L}$	2,8 %	20

- Reprodutibilidade (interensaio):

Concentração média	CV	n
43 U/L = 0,72 $\mu\text{kat/L}$	5,3 %	25
192 U/L = 3,2 $\mu\text{kat/L}$	2,7 %	25

- Sensibilidade: 0,3 $\Delta\text{mA}\cdot\text{L}/\text{U}\cdot\text{min} = 0,00502 \Delta\text{mA}\cdot\text{L}/\mu\text{kat}\cdot\text{min}$
- Veracidade: Os resultados obtidos com estes reagentes não mostram diferenças sistemáticas significativas quando comparados com reagentes de referência. Os detalhes do estudo comparativo estão abaixo disponíveis.
- Interferências: A hemólise (hemoglobina 10 g/L) e a bilirrubina (20 mg/dL) não interferem. A lipemia (triglicéridos 2 g/L) pode afectar os resultados. Outros medicamentos e substâncias podem interferir⁴.

Estes dados foram obtidos utilizando um analisador. Os resultados podem variar ao mudar de equipamento ou ao realizar-se o procedimento manualmente.

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

As aminotransferases catalizam a formação de ácido glutâmico a partir de 2-oxoglutarato mediante a transferência de grupos amino. A ALT encontra-se em diferentes tecidos ainda que as suas maiores concentrações se encontrem no fígado e rins.

Observam-se concentrações séricas elevadas de ALT na hepatite e outras doenças hepáticas associadas com necrosis: mononucleose infecciosa, colestasis, cirrose, carcinoma metastático do fígado, delirium tremens, assim como após a administração de algunos medicamentos como opiatos, salicilatos ou ampicilina^{5,6}.

Também se pode encontrar concentrações séricas elevadas de ALT em doenças do músculo esquelético ou cardíaco^{5,6}.

O diagnóstico clínico não se deve realizar tendo em conta o resultado de um único teste, mas deve integrar-se nos dados clínicos e de laboratório.

NOTAS

- A IFCC recomenda a utilização de fosfato de piridoxal. Neste caso, antes de iniciar o período de incubação, o tempo de pré-incubação deve aumentar-se para 2 minutos.
- Estes reagentes podem utilizar-se na maioria dos analisadores automáticos. Solicite informação ao seu distribuidor.

BIBLIOGRAFIA

- Sociedad Española de Química Clínica, Comité Científico, Comisión de Enzimas. Método recomendado para la determinación en rutina de la concentración catalítica de la alanina aminotransferasa en suero sanguíneo humano. *Quim Clin* 1987; 6: 241-244.
- Approved Recommendation (1985) on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes. Part 3: IFCC Method for Alanine Aminotransferase (EC 2.6.1.2). *J. Clin Chem Clin Biochem* 1986; 24: 481-495.
- Gella FJ, Olivella T, Cruz Pastor M, Arenas J, Moreno R, Durban R and Gómez JA. A simple procedure for routine determination of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase with pyridoxal phosphate. *Clin Chim Acta* 1985; 153: 241-247.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994.