ALT (TGP)

MÉTODO:
Cinético UV.

FINALIDADE:
Kit de reagentes para a determinação quantitativa da alanina aminotransferase (ALT) no soro ou plasma em sistemas fotométricos.
Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

SIGNIFICADO CLÍNICO:
A alanina aminotransferase (ALT), também chamada de transaminase glutâmico-pirúvica (TGP), é uma enzima que catalisa a conversão de aminoácidos em α-cetoácidos pela transferência dos grupos amina. Sua maior atividade é no fígado, mas também está presente em pequenas quantidades no coração, rins, músculos esqueléticos, pâncreas, baço e pulmões. Níveis elevados podem indicar infarto do miocárdio ou no choque com necrose hepática. O aumento da atividade de ALT (TGP) no soro é um marcador específico do dano ao parênquima hepático, enquanto a aspartato aminotransferase (AST) não é necessariamente um parâmetro específico do fígado.

FUNDAMENTO:
Em solução tamponada, a ALT (TGP) catalisa a transição do grupo amina de L-alanina para o 2-oxoglutarato, formando L-glutamato e piruvato. O piruvato é reduzido pela lactato desidrogenase (LDH) a L-lactato, gerando NAD^+. A taxa de decréscimo de NADH medido fotometricamente é proporcional à atividade de ALT (TGP) presente na amostra.

$$2\text{-}oxoglutarato + L\text{-}alanina \xrightarrow{\text{ALT (TGP)}} L\text{-}glutamato + Piruvato$$

$$Piruvato + NADH + H^+ \xrightarrow{LDH} L\text{-}lactato + NAD^+$$

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:
Conservar entre 2 e 8 °C.

COMPOSIÇÃO:

R1:		
Tampão Tris, pH 7,5	≥100	mmol/L
L-Alanina	≥500	mmol/L
LDH	>2,0	kU/L
Azida sódica	≥2,0	g/L
Surfactantes e conservantes	<5,0	g/L
R2:		
Tampão Tris, pH 9,6	≥100	mmol/L
NADH	≥1,5	mmol/L
2-Oxoglutarato	≥170	mmol/L
Azida sódica	0,2	g/L

MODO DE USO:
Os reagentes estão prontos para uso e não dependem de preparo.

Opcionalmente, os reagentes podem ser utilizados como Reagente de Trabalho. Sendo que, nesse caso, a proporção da mistura é de 4 partes de Reagente 1 com 1 parte do Reagente 2. Homogeneizar antes do uso.

ESTABILIDADE:
R1 e R2 são estáveis até a data de validade impressa no rótulo se mantidos fechados de 2 a 8 °C.
O Reagente de trabalho é estável por 10 dias entre 2 e 8 °C.
Não congelar!

Estabilidade *on board*
Após a abertura e instalação no analisador, os reagentes permanecem estáveis **por até 61 dias**, desde que mantidos no compartimento refrigerado dos analisadores Vyttra – BM SERIES.

Deve-se substituir o reagente imediatamente ao identificar sinais de instabilidade ou deterioração, tais como:
- Degradação Física: Presença de turbidez, precipitação ou alteração na coloração original da solução e sinais visíveis de vazamento.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos limites de tolerância, critérios de aceitação estabelecidos, ou falhas consecutivas no processo de calibração do sistema analítico.

Frequência de Calibração
A calibração desse ensaio deve ser realizada quando inserido no sistema. Uma nova calibração deverá ser executada quando houver:
- Troca de Lote: Instalação de um novo lote de reagentes
- Intervenção Técnica: Após manutenções preventivas ou corretivas.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos critérios de aceitação estabelecidos.

A calibração do ensaio é válida **por até 30 dias**, podendo ser antecipada caso um dos cenários acima ocorra.

Nota: A periodicidade da calibração pode ser redefinida pelo laboratório, desde que fundamentada em evidências documentadas que comprovem a manutenção do desempenho analítico dentro dos limites especificados.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:
O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES:
- A manutenção das características de desempenho e da segurança do produto é também de responsabilidade do laboratório usuário, que deve assegurar o cumprimento das Boas Práticas de Laboratório, a utilização conforme esta Instrução de Uso, o armazenamento, transporte e manuseio adequados, a calibração, verificação e manutenção dos equipamentos, a capacitação dos profissionais envolvidos, bem como a utilização de níveis de controle de qualidade apropriados ao ensaio, conforme os requisitos aplicáveis
- Os reagentes não necessitam ser tratados como amostras contaminantes.
- Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente.
- Não há como assegurar que amostras biológicas e soros controles estão totalmente isentos de agentes infecciosos, portanto, é recomendado manuseá-los de acordo com as instruções de biossegurança. Para as informações de segurança do produto, consultar a Ficha de Segurança (FDS).
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.
- Os reagentes contêm azida sódica como conservante. Evitar contato com a pele e mucosas. Em caso de contato com os olhos, lavar com bastante água por vários minutos.

AMOSTRA BIOLÓGICA:
Soro ou plasma (EDTA, heparina) livres de hemólise.

ESTABILIDADE DAS AMOSTRAS:
A estabilidade da alanina aminotransferase na amostra é de até 7 dias entre 2 e 8 °C, 4 dias entre 20 e 25 °C e 3 meses a -20 °C. Plasmas fluoretados e oxalatados podem causar resultados falsamente diminuídos.
Descongelar as amostras apenas uma vez e descartar amostras contaminadas!

INTERFERENTES:
Nenhuma das substâncias abaixo apresentou interferência até as seguintes concentrações:

Ácido ascórbico	30 mg/dL
Bilirrubina	20 mg/dL
Hemoglobina	400 mg/dL
Triglicérides	600 mg/dL

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:
- Fotômetro UV/VIS
- Pipetas
- Cronômetro
- Tubos de ensaio
- Solução NaCl 9,0 g/L
- Banho-maria a 37 °C
- Controles e calibrador

MÉTODO DE ANÁLISE:
A-Preparo:
Termostatizar o reagente de uso na temperatura desejada. A temperatura deve permanecer constante (±0,5 °C) durante a execução do teste.

B-Leitura em espectrofotômetro:
Comprimento de onda (λ): 340 nm (334 a 365 nm)
Temperatura: 37 ±0,5 °C
Tipo de reação: Cinética decrescente
Calibração: Linear de 2 pontos, contra reagente branco

C-Esquema de pipetagem:
1- Marcar 3 tubos ou cubetas como Branco, Padrão e Amostra e proceder conforme o protocolo a seguir:

Pipetar	**Tubos ou cubetas**		
	Branco	**Padrão**	**Amostra**
R1	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Água	100 µL	---	---
Calibrador/Padrão	---	100 µL	---
Amostra	---	---	100 µL
Homogeneizar bem e incubar por 1 minuto, então adicione:			
R2	250 µL	250 µL	250 µL

2- Homogeneizar bem, incubar a 37 °C
3- Ler absorbância inicial a 340 nm (334 a 365 nm) após 1 minuto acionando o cronômetro simultaneamente
4- Ler novamente a absorbância após 1, 2 e 3 minutos, respeitando o mesmo comprimento de onda utilizado na absorbância inicial

D-Cálculo com padrão:
Para avaliar a linearidade da reação, observar se as diferenças de absorbância a cada minuto são equivalentes. Calcular a média das diferenças das absorbâncias por minuto (ΔAbs/min):

$$\Delta Abs/min = \frac{(Abs1 - Abs0) + (Abs2 - Abs1) + (Abs3 - Abs2)}{3}$$

$$\text{Atividade da ALT/TGP (U/L)} = \frac{\Delta Abs/min_{Amostra}}{\Delta Abs/min_{Padrão}} \times \text{Concentração do Calibrador/Padrão}$$

Exemplo:

Padrão:	Amostra:
A0 = 1,015	A0 = 0,925
A1 = 1,075	A1 = 0,965
A2 = 1,137	A2 = 1,007
A3 = 1,201	A3 = 1,051

$$\Delta Abs/min_{Padrão} = \frac{(1,075 - 1,015) + (1,137 - 1,075) + (1,201 - 1,137)}{3} = 0,062$$

$$\Delta Abs/min_{Amostra} = \frac{(0,965 - 0,925) + (1,007 - 0,965) + (1,051 - 1,007)}{3} = 0,042$$

Padrão = 50 U/L

$$\text{Atividade da ALT/TGP} = \frac{0,042}{0,062} \times 50 = \textbf{34 U/L}$$

ALT (TGP)

E-Cálculo com fator:
O fator calculado baseado no coeficiente de extinção molar varia e pode ser utilizado:

	Sem reagente de trabalho	Com reagente de trabalho
ALT (TGP), 37 °C, λ 340 nm	2063 × ΔAbs/min	1756 × ΔAbs/min

VALORES DE REFERÊNCIA:

	Masculino		Femenino	
1 a 30 dias	20 – 54 U/L	(0,33 – 0,90 µkat/L)	21 – 54 U/L	(0,35 – 0,90 µkat/L)
1 a 6 meses	26 – 55 U/L	(0,43 – 0,92 µkat/L)	26 – 61 U/L	(0,43 – 1,02 µkat/L)
7 a 12 meses	26 – 59 U/L	(0,43 – 0,99 µkat/L)	26 – 55 U/L	(0,43 – 0,92 µkat/L)
1 a 3 anos	19 – 59 U/L	(0,32 – 0,99 µkat/L)	24 – 59 U/L	(0,40 – 0,99 µkat/L)
4 a 11 anos	24 – 49 U/L	(0,40 – 0,82 µkat/L)	24 – 49 U/L	(0,40 – 0,82 µkat/L)
12 a 15 anos	24 – 59 U/L	(0,40 – 0,99 µkat/L)	19 – 44 U/L	(0,32 – 0,73 µkat/L)
Adultos	11 – 45 U/L	(0,18 – 0,75 µkat/L)	10 – 37 U/L	(0,17 – 0,62 µkat/L)

Esses valores são fornecidos somente como orientação, cada laboratório deve estabelecer sua faixa de referência.
Conversão unitária: 1 U/L × 0,0167 = µkat/L

AUTOMAÇÃO:
Adaptação especial para analisadores está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada.

LINEARIDADE:
A reação é linear até a concentração de 600 U/L (10 µkat/L). Se os valores excederem esse intervalo, as amostras devem ser diluídas com solução NaCl 9,0 g/L e multiplicadas pelo fator de diluição aplicado.

SENSIBILIDADE:
O limite inferior de detecção é 4,0 U/L (0,07 µkat/L).

PRECISÃO:
Repetibilidade:
A repetibilidade foi calculada a partir de 25 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTRAENSAIO *n = 25*	Média (U/L)	Desvio padrão (U/L)	CV%
Amostra 1	18,5	0,561	3,04
Amostra 2	61,1	1,040	1,70
Amostra 3	285,8	4,308	1,51

Reprodutibilidade:
A reprodutibilidade foi calculada a partir de 25 determinações sucessivas durante 5 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTERENSAIO *n = 25*	Média (U/L)	Desvio padrão (U/L)	CV%
Amostra 1	18,5	0,671	3,63
Amostra 2	61,4	1,104	1,80
Amostra 3	287,6	3,264	1,13

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:
Foram realizados testes com 98 amostras comparando-se o reagente ALT (TGP) (y) a um teste comercialmente disponível (x). A análise de regressão linear de Passing-Bablok resultou em:
$y = 1{,}015x + 1{,}308$ coeficiente de correlação (r-Pearson) = 0,9930

CALIBRAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE:
Para Calibração e Controle Interno de Qualidade Laboratorial recomenda-se o uso do calibrador e controles abaixo:
VYTCAL Multicalibrador Universal Bioquímica Clínica
VYTCON BQ I
VYTCON BQ II

APRESENTAÇÕES:

	REFERÊNCIA	VOLUME	CONTEÚDO R1	CONTEÚDO R2
ALT (TGP) (Universal)	VYT010307175EN	100 mL	4 x 20 mL	2 x 10 mL
	VYT010307174EN	150 mL	4 x 30 mL	2 x 15 mL
ALT (TGP) (BM SERIES I)	VYT010307289EN	100 mL	2 x 40 mL	2 x 10 mL
	VYT010307364EN	200 mL	4 x 40 mL	4 x 10 mL
ALT (TGP) (BM SERIES III)	VYT010307425EN	375 mL	5 x 60 mL	5 x 15 mL

ANVISA: 81692610091

BIBLIOGRAFIA:

1. Guder WG et al. List of Analytes Preanalytical Variables. In: Samples: From the Patient to the Laboratory, 2nd Ed. 2003.
2. Ricos C et al. Scand J Clin Lab Invest. 59:491-500, 1999.
3. Statland B.E. Clinical Decision Levels for Laboratory Tests, Second Edition [Oradell NJ; Medical Economics Books, 1987.
4. Frase, CG. Biological Variation: from principles to pratice; AACC Press, 2001.
5. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Clin Chem. 24:863-8690, 1986.
6. Young DS. Ann Clin Biochem. 34(6):579-581, 1997
7. Schumann G et al. Clin Chem Lab Med. 40(7):718–724, 2002.
8. Clancy D et al. AAPS PharmSciTech. 18, 1158–1176, 2017.
9. Wong ECC et al. Pediatric Reference Intervals, 8th Ed. San Diego, CA: AACC Press, 2021.
10. Wu AHB. Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests., 4th Ed. Missouri: Elsevier (Saunders), 2006.

SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE – SAC:
Dúvidas técnicas no procedimento ou manuseio deste kit, entrar em contato com:

ASSESSORIA CIENTÍFICA – VYTTRA DIAGNÓSTICOS
Tel. 0800 703 4043

FABRICANTE:

Vyttra Diagnósticos S.A.
Avenida Radamés Lo Sardo, 222 - Bairro Uberaba - Bragança Paulista - São Paulo
CEP: 12908-829 CNPJ: 00.904.728/0012-09
Responsável Técnica: Patrícia Yamaguti - CRF/SP: 32622

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO:

- Data de Fabricação
- Data de Validade
- Limite de Temperatura
- REF — Código do Produto
- Consultar Instruções de Uso
- LOT — Número do Lote
- IVD — Produto para Diagnóstico In Vitro