



# QUIMIALT – ALT/TGP

## Alanina Aminotransferase

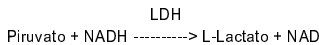
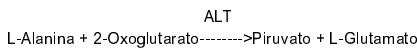
### Finalidade:

Reação enzimática para determinação quantitativa de alanina aminotransferase (ALT) em amostras de soro e plasma humanos. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

### Princípio:

A ALT catalisa a transferência do grupo amino da L-Alanina para 2-oxoglutarato resultando na formação do piruvato e L-glutamato. O lactato desidrogenase catalisa a redução do piruvato e a oxidação simultânea do NADH para o NAD. A razão resultante da diminuição em absorbância é diretamente proporcional à atividade do ALT, quando medido em 340 nm.

A amostra piruvato endógeno é rapidamente e completamente reduzida pelo lactato desidrogenase (LDH), durante o período inicial da incubação, assim não interfere com o teste. O presente método está baseado nas recomendações da Federação Internacional de Química Clínica (IFCC) Temos então a seguinte reação:



### Metodologia:

UV

### Significado Clínico:

ALT está presente em altas concentrações no fígado e em menor concentração no rim, coração, musculatura esquelética, pâncreas, baço e pulmão.

Níveis aumentados de ALT resultam geralmente de doenças associadas ao fígado com algum grau de necrose hepática como cirrose, carcinoma, hepatite viral ou tóxica e icterícia obstrutiva. A ALT está geralmente mais alta que o AST em hepatite tóxica ou viral aguda, enquanto que para a maioria dos pacientes com doença hepática crônica, os níveis de ALT são geralmente mais baixos do que os níveis de AST. A relação AST/ALT nas hepatites alcoólicas (com necrose) é geralmente > 1, ao passo que nas hepatites virais é < 1.

Níveis elevados de ALT são também encontrados no trauma extensivo, doenças musculares, falha circulatória com choque, hipóxia, infarto do miocárdio e doença hemolítica.

### Reagentes:

Reagente único pronto para uso. Conservar entre 2 - 8 °C. Contém: 2 - Oxoglutarato 13 mmol/L, L-Alanina 440 mmol/L, NADH 0.12 mmol/L, LDH > 2000 U/L, Tampão Tris 97 mmol/L em pH 7,8 ± 0,1 a 20°C.

O reagente não aberto é estável até a data de vencimento impressa no rótulo do produto, após aberto o reagente é estável por 3 meses e on board (no compartimento refrigerado do analisador) possuem estabilidade de aproximadamente 7 a 10 dias. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminação de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

### Precauções e Cuidados Requeridos:

Este reagente deve ser usado somente para diagnóstico "in vitro". Não pipetar com a boca. Evitar contato com a pele e roupa. No caso de contato com os olhos, lavar com grande quantidade de água e procurar auxílio médico. Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos. Não usar se a absorbância inicial estiver menor que 0,9 quando medido em 340 nm ou se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco.

### Material Necessário não Fornecido:

1. Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorbância em 340 nm.
2. Pipetas para medição de amostras e reagente.
3. Água destilada/deionizada.
4. Consumíveis do analisador quando usado.
5. Calibrador e Soros Controle
6. Medidor de tempo.

### Amostra:

É recomendável a utilização de soro e plasma livre de hemólise, pois as hemácias contêm ALT. A ALT no soro e plasma é estável por 3 dias à temperatura ambiente (< 25°C) e 7 dias se mantido entre 2 - 8°C. A amostra poderá ser congelada (-20°C) por um mês quando vedada.

Todas as amostras e controles são considerados potencialmente infectantes, portanto sugerimos manuseá-las seguindo as normas estabelecidas de Biossegurança.

### Preparo do Paciente:

É recomendado um jejum mínimo de 4 horas. Todavia, poderá ser

modificado segundo orientação médica.

### Interferências:

Amostras hemolisadas podem elevar os resultados, uma vez que a atividade do ALT é de 3 a 5 vezes maior nos eritrócitos do que no soro normal.

Amostras lipêmicas ou turvas podem dar leituras cujas absorbâncias iniciais excedem a capacidade do espectrofotômetro. Resultados mais apurados podem ser obtidos pelo uso de 0,05 mL (50 µL) da amostra e multiplicação da resposta final por 2.

Citrato e flúor inibem a atividade enzimática. Uma leitura muito baixa, junto com uma pequena mudança de absorbância entre as leituras pode indicar um nível muito alto de ALT. Dilua a amostra com solução salina e repita o teste multiplicando o resultado pelo fator de diluição.

Algumas drogas e substâncias afetam a concentração do ALT, sugerimos consultar Young et al.

### Parâmetros do Sistema:

Temperatura: 37°C  
Comprimento de Onda: 340 nm.  
Tipo de Reação: Cinética de ordem zero  
Direção: Decrescente  
Relação Amostra/Reativo: 1:10  
Vol. Amostra: 100 µL  
Vol. Reagente: 1,0 mL  
Tempo de Incubação: 30 segundos (retardo)  
Intervalo de leitura: 1 minuto.  
Número de Intervalo: 2 a 3

### Calibração:

Utilizar Quimicalib Ebram cód.7023/12023 que possui a concentração rastreável ao método de referência proposto pelo CLSI, ou realizar a calibração através de fatoração, obtida através da absorção média milimolar do NADH a 340 nm sob condições específicas.

### Procedimento Automatizado:

Aplicação no sistema automatizado: vide manual para utilização do equipamento e instruções de uso do reagente.

Aplicação no sistema semi-automático: proceder como demonstrado a seguir no procedimento manual somente até o item 1 (preparação dos tubos), em seguida utilizar o equipamento para leitura, seguindo protocolo analítico específico baseado no item Parâmetros do Sistema.

Nota: Adicionar as amostras no tubo somente no momento que antecede a aspiração do equipamento.

### Procedimento Manual:

1. Separar 3 tubos de ensaio e realizar os procedimentos conforme abaixo:

	Branco	Calib.	Amostra/S.C.
Água destilada	100µL	-	-
Calibrador	-	100µL	-
Amostra/S.C.	-	-	100µL
Reagente	1,0mL	1,0 mL	1,0 mL

2. Adicionar 1,0 mL do reagente em dois tubos e deixe em banho - maria (BM) a 37°C O nível de água no BM deve ser superior ao nível de reagentes nos tubos de ensaio.

4. Adicionar 100µL do calibrador e 100µL de água destilada em cada tubo.

5. Aguardar de 30 segundos

6. Zerar o espectrofotômetro a 340nm com o tubo do branco.

7. Inserir no equipamento o tubo com o calibrador e registrar as absorbâncias A1, A2, A3, considerando A1 a primeira leitura (logo após os 30 segundos de retardo) e as seguintes com 1 minutos de intervalo.

8. Determinar as duas diferenças de absorbância/min (Δ Abs/min), subtraindo cada leitura de sua anterior.

9. Determinar a média das diferenças de absorbância (Δ Abs/min).

Proceder em seguida do mesmo modo com os controles e todas as amostras.

Obs.: Procedimento sugerido para espectrofotômetros que requerem volume mínimo de 1,0 mL e podem ser ajustados proporcionalmente sem influência no desempenho do teste. Salientamos que volumes de amostra menores do que 10 µL aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

### Cálculos:

(Abs. = Absorbância)  
(Conc. = Concentração)  
 $\Delta \text{ Abs. /min} = (A2 - A1) + (A3 - A2) / 2$

$\text{TGP da Amostra (U/L)} = \frac{\Delta \text{ Abs /min (amostra)}}{\Delta \text{ Abs /min (Calib)}} \times \text{Conc. Do Calibrador (U/L)}$

### Exemplo:

Absorbancia com o Calibrador  
A1 = 0,045 / A2 = 0,075 / A3 = 0,147  
Média = (0,095 - 0,085) + (0,125 - 0,095)  
 $\Delta \text{ Abs/min} = \frac{0,010 + 0,030}{2} = 0,020$

Média Δ Abs/min (calib) = 0,02  
Média Δ Abs/min (amostra) = 0,0125 (calc. l dem acima)  
Concentração do Calibrador = 106 U/L

TGP Amostra = (0,0125 / 0,02) \* 106  
TGP Amostra = 66 U/L  
Obs: nkat/L = U/L x 16,67

### Linearidade:

Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 400 U/L.

Amostras com valores superiores a 400 U/L devem ser diluídas com solução salina a ponto de ficarem entre 0 - 400 U/L e os resultados devem ser multiplicados pelo fator de diluição.

### Controle de Qualidade:

Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e ações corretivas. Deve-se manter também um sistema definido para se monitorar a variação analítica do sistema de medição. Aconselhamos o uso dos soros controle Quimicontrol Normal e Quimicontrol Anormal Ebram Cód. 7024/12024 e 7031/12031.

### Valores Esperados:

Até 36 U/L, baseados nas medições desempenhadas a 37°C. Estes valores são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

### Estudos Comparativos:

Estudos executados entre este procedimento e uma metodologia similar produziram os seguintes resultados estatísticos:

Número de Amostras:	30
Intervalo dos resultados	5 - 100 U/L
Coefficiente de Correlação:	0,998
Inclinação:	1,00
Intercepta:	1,73 (U/L)

### Precisão:

Estudos de precisão foram executados com dois níveis (normal e patológico) sendo que cada amostra fora processada por 10 vezes e os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=10	Nível 1	Nível 2
Média (U/L)	24,9	91,6
D.P. (U/L)	1,2	1,7
C.V. (%)	4,8	1,9

### Exatidão:

As amostras foram processadas por 10 dias consecutivos, uma vez por dia e em duplicata. Os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=10	Nível 1	Nível 2
Média (U/L)	25,1	91,4
D.P. (U/L)	2,2	2,6
C.V. (%)	8,8	2,8

### Sensibilidade Metodológica:

5 U/L

### Especificidade:

Como as amostras foram selecionadas aleatoriamente em pacientes de ambulatório e hospitalizados, pode-se inferir que o método tem uma especificidade metodológica adequada.

### Observações:

1. A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
2. A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade ≥ 1 mega ohm ou condutividade ≤ 1 microsiemens e concentração de silicatos < 0,1 mg/L (água tipo II). Para o enxágue da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade ≥ 0,1 megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágue final utilizar água tipo II.

### Apresentação:

Linha Bioquímica Geral: 1 x 200mL

Linha SAT 450: 2 x 45mL

Linha Bulk: 1 x 500mL

Para mais informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM - tel. (011) 2291-2811, sac@ebram.com ou www.ebram.com

### Referência Bibliográfica:

1. Tietz, N.W. Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Co., Philadelphia pp 674 & 675 (1982).
2. Henley, K.S. Pollard, H.M. J. Lab. Clin. Med. 46:785 (1955)
3. Wroblewski, F., La Due, J.S. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 91:569 (1956)
4. Henry, R.J., et al. Am. J. Clin. Path, 34:381 (1960)
5. Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 32:291 (1974)
6. Clinica Chimica Acta 105:145F-172F (1980).
7. Henry, R.J., Clinical Chemistry: Principles and Technics, Harper and Row, New York, p 522 (1968).
8. Young, D.S. et al. Clin. Chem. 21:1D (1975).
9. Henry, J.B. Clinical Diagnosis & Management by Laboratory Methods, W.B. Saunders Co., Philadelphia, p 1437 (1984).
10. Miller, O., Gonçalves, R.R., Laboratório para o Clínico, 8 ed. Atheneu, (1998).
11. Arquivos da EBRAM.



### APLICAÇÃO PARA COBAS MIRA

<b>GENERAL</b>	
Measurement Mode:	ABSORB
Reaction Mode:	R-S
Calibration Mode:	Calib (Slope AVG)
Reagent Blank:	Reagent/Dil
Cleaner:	Before
Wavelength:	340 nm
Decimal Position:	0
Unit:	U/L
<b>ANALYSIS</b>	
Dilution Name:	STD
Factor:	Main STD
Time:	Sample Dil Name: H2O
Post Dil Factor: 5.00	Conc. Factor: No
Sample:	Cycle: 1
Volume:	Dil: 20ul
Reagent:	Cycle: 1
Volume:	180ul
Start Reagent 1:	Cycle:
Volume:	Dil:
Start Reagent 2:	Cycle:
Volume:	Dil:
<b>CALCULATION</b>	
Sample Limit:	0.8000
Point:	T1
Reaction Direction:	Decrease
Check:	On
Conversion Factor:	1.00000
Offset:	0.00000
Test Range Low:	5.0
High:	400
Norm Range Low:	10
High:	35
Number of Slats:	1
Calculation Slope A:	Kinaseach
Readings First:	3
Last:	12
Reaction Limit:	0.10
Point:	T1
Calib Interval:	On Request
<b>CALIBRATION</b>	
Reagent Blank:	
Reagent Range:	
Reagent Range Low:	0.0000
High:	1.5000
Blank Range Low:	-0.0050
High:	0.0050
Factor:	
Calibrator Pos:	(*)
STD1:	(**)
STD2:	
STD3:	
STD4:	
STD5:	
STD6:	
STD7:	
STD8:	
Calc Model:	
Correction STD:	
Replicate:	
Deviation:	
<b>CONTROL</b>	
CS1 - Pos(*) Assay(**) Low(**) High(**)	
CS2 - Pos(*) Assay(**) Low(**) High(**)	
CS3 - Pos(*) Assay(**) Low(**) High(**)	

(\*) colocar a posição correspondente do Rack CAL/CS  
 (\*\*) colocar o valor correspondente do calibrador  
 (\*\*\*) colocar o valor correspondente do soro controle

### APLICAÇÃO PARA EXPRESS 550

Test Name: ALT/TGP	Test: ALT			
Test Bar Code:				
Test Type: Kinetic	Curve Type: Enzyme Linear			
Units: U/L	Nº of Decimal Places: 0			
Primary Wavelength: 340	Secondary Wavelength: 380			
Read Time Interval: 60	Sample Blank: No			
Factor:				
Calibration Interval: 999				
Normalization Interval:				
Nº of Calibrators: 2	Nº of Replicates: 2			
Low Blank A Limit:	High Blank A Limit: 2.000			
Low A Limit: 0.700	High A Limit: 2.000			
Low Normal: 10	High Normal: 35			
Linearity Limit: 400	Curve S.D Limit: 2.00			
Test Name: ALT/TGP	Test: ALT			
Test Bar Code:				
Sample Volume: 25ul	Sample Diluent:			
Reagent Dilution Ratio: 2 ul	Predilution Ratio: 1			
Reagent Dilution:				
Reagent 1	Reagent Volume	Bar Code	Diluent Volume	Lag Time
Reagent 2	250	ZC1A		60sec
Reagent 3				
Reagent 4				
Controls:				

Ebram Prods. Laboratoriais Ltda®  
 Rua Júlio de Castilhos, nº 500 - Belenzinho  
 São Paulo - SP - Cep: 03059-001  
 Tel.: (11) 2291-2811  
 Indústria Brasileira  
 CNPJ.: 50.657.402/0001-31  
 www.ebram.com  
 sac@ebram.com  
 SAC.: (11) 2291-2811  
 Resp.Téc.: Nadjara Novaes Longen  
 CRF-SP - 37.451  
 Nº do Reg. MS: 10159820101  
 Edição: Jan/2020

### APLICAÇÃO PARA SELECTRA

Name:	ALT/TGP
Abbr Name:	ALT
Mode:	Kinetic
Wavelength:	340 nm
Units:	U/L
Factor:	
Decimals:	0
Low Conc:	5.0
High Conc:	400
Calibrator Name:	(*)
Repeat:	2
Number:	1
Concentration:	(**)
Interval:	(*)
Cut off:	NO
Prozone Check:	NO
Ref Male Low:	10
Ref Male High:	35
Ref Female Low:	10
Ref Female High:	35
Ref Pad Low:	7
Ref Pad High:	40
Control 1:	*
Control 2:	*
Control 3:	*
Complet Factor:	1.000
Complet Offset:	0.000
<b>DUAL MODE</b>	
Name:	ALT
Sample Blank:	NO
R1 Bottle:	25 ml
Normal Volume:	300 ul
Run Volume:	320 ul
<b>SAMPLE</b>	
Normal Volume:	30 ul
Run Volume:	10ul
R2 Bottle:	5 ml
Normal Volume:	0
Run Volume:	0
Predilution:	NO
Slope Blank:	NO
Delay Min Time:	77.159 sec
Linearity Limit:	15 %
Point One - Two:	
Incubation Time:	
Low Absorbance:	0.550
High Absorbance:	3.000
R ABS L Limit:	1.000
R ABS H Limit:	3.000
Substr Depletion:	
Reagent Blank:	-0.500
R ABS Deviation:	YES (***)
Cal Low Limit:	
Cal High Limit:	
Factor:	(***)
<b>MONO MODE</b>	
Name:	ALT
Sample Blank:	NO
R1 Bottle:	25 ml
Normal Volume:	300ul
Run Volume:	320 ul
<b>SAMPLE</b>	
Normal Volume:	30 ul
Run Volume:	10ul
Delay Min Time:	70.156 sec.
Linearity Limit:	15%
Predilution:	
Incubation Time:	
Point One - Two:	
Low Absorbance:	0.550
High Absorbance:	3.000
R ABS L Limit:	1.000
R ABS H Limit:	2.000
Substr Depletion:	0.6
R ABS Deviation:	-0.500
Reagent Blank:	YES (***)
Cal Low Limit:	(*)
Cal High Limit:	(*)
Factor:	(***)
(*) Dados colocado pelo usuário	
(**) Colocar valor correspondente do calibrador	
(***) Dados calculados pelo analisador	
#	

### APLICAÇÃO PARA BTR 810

Name:	ALT
Point Final:	U/L
Units:	
Mode Label:	340
Filter:	
Tempo Estab:	
Factor:	
Tempo de Incubação:	60
Tempo de Intercala:	60
Nº de Intercala:	3
Temperatura:	37°C
Volume Amostrado:	400
Time Resposta:	Desconecta
Estandart:	**

### APLICAÇÃO PARA QUICK LAB

Mode:	Céltica
Le Lum:	
Filter:	340
Temperatura:	37°C
Volume Assc:	400
Units:	U/L
Linea Lin:	400
Inclinação:	Desconecta
Célula:	PADRAO
Padão:	(*)
Factor:	1748
Delay Initial:	60
Quant Intery:	3
Tempo Intery:	60
Tempo Estab:	

### APLICAÇÃO PARA BIO 2000

Mode:	Céltica
WL1:	340
Blank:	
Blk Area Pad:	
Temp:	37°C
Vol Asnc:	0400
Ref:	080
Pat:	1748
Padão:	0101
Pat:	UNICA
Pat1:	(**)
Unit:	U/L
Dec:	0
Int Clr:	60
nº Int:	3
dAMIN:	0.280
%Lim Lin:	10
Dir:	Descr
Lim Lin - Min/Max:	
Abs Real - Min/Max:	0.800 / 2.500
Abs Pad - Min/Max:	
Vol/n - Min/Max:	10 / 35

### APLICAÇÃO PARA RA-XT

Name:	ALT
Immunosay:	NO
Chemistry Type:	ZERO ORDER
BioType:	
Immuno Chemistry:	YES
% Sample Volume:	35 (18ul)
Wavelength:	340
Biochemical Chemistry:	
Biochemical Factor:	1.0000
K1:	
K2:	
Bio Limit 1:	
Bio Limit 2:	
Detection Limit:	0.2300
Delay Time:	1.00
Blank Type:	
Incubate:	
% Reagent Volume:	66 (330ul)
2nd Reagent:	NO
2nd Reagent Volume:	
A2 Delay:	
Units:	U/L
Unit Factor:	1.0000
Decimal Point:	0
RBL Low:	0.580
RBL High:	
Range Low:	5.0
Range High:	400
Calibration Factor:	(*)
Reagent Rate:	0.0009
Standard Value:	(**)
Normal Low:	10
Normal High:	35
Slope:	1.000
Intercept:	0.0000
C1*10E-6:	0.00
C2*10E-6:	89989.01
D1*10E-6:	20.00
Del.R:	0.012
Linear Factor:	
Final Limit:	
Endoint Limit:	
(*) Colocar 1 como valor inicial. O valor CAL FACT é determinado pelo analisador	
(**) Colocar a concentração do calibrador	

### APLICAÇÃO PARA AIRONE

Measure Unit:	U/L	Decimals:	0	Reaction Type:	Kinetic
Volume (µl):	Serum: 40	Plasma:	-	Urine:	-
Reagent 1:	400	Reagent 2:	0		
Abs Range (m Abs):	Min: 0	Max:	2.500		
Linearity Limit:	400.00	Reagent Blank:	NO		
Contaminating:	No	Differential:	No		
Filter 1:	340	Filter 2:	None		
Time (sec):	Mk 1: 0.00	Incubation 1:	40	Lag Phase:	20
	Mk 2: 0.00	Incubation 2:	0	Measure:	30
Measurement Type:	STANDARD	Factor:	0.00		
Normal Range					
Age (yrs)		Homens		Mulheres	
Below 10:		Min.	Max.	Min.	Max.
From 10 to 60:		10	35	10	35
Over:					

Disponemos de programações para outros analisadores, entre em contato com SAC EBRAM.