



## QUIMIALT - ALT/TGP

### Alanina Aminotransferase

REG. MS: 10159820101

#### EBRAM PRODUTOS LABORATORIAIS LTDA.

Rua Julio de Castilhos, 500 - Belenzinho  
São Paulo - SP - Tel.: +55 11 2291 2811  
CEP 03059-001 | Indústria Brasileira  
CNPJ.: 50.657.402/0001-31

#### RESPONSÁVEL TÉCNICA

Dra. Nadjara Novaes Longen | CRF-SP - 37.451

Para mais informações, entrar em contato com o **SAC EBRAM**

0800 500 2424 ou ☎ 11 2574 7110

sac@eb Bram.com | www.eb Bram.com

Revisão: Fev/2023

**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 absorvância 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, hipoxia, 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  $7,8 \pm 0,1$  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 houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco.

#### MATERIAL NECESSÁRIO NÃO FORNECIDO.

- Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorvância em 340 nm.
- Pipetas para medição de amostras e reagente.
- Água destilada/deionizada.
- Consumíveis do analisador quando usado.
- Calibrador e Soros Controle
- Cronômetro.

**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 ( $< 25^\circ\text{C}$ ) e 7 dias se mantido entre 2-8°C. A amostra poderá ser congelada ( $-20^\circ\text{C}$ ) 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 absorvâncias 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 absorvância 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 intervalos	2 a 3

**CALIBRAÇÃO.** Utilizar Quimicalib Ebram cod.7023/12023 que possui a concentração rastreável ao material de referência ERM-AD454k/IFCC, 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.

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

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

Nota: Realizar a incubação das amostras, calibrador e soro controle (S.C.) individualmente.

- 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.

- Adicionar 100µL do calibrador e 100µL de água destilada em cada tubo.
- Aguardar 30 segundos
- Zerar o espectrofotômetro a 340nm com o tubo do branco.
- 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 minuto de intervalo.
- Determinar as duas diferenças de absorbância/minuto ( $\Delta$  Abs/min), subtraindo cada leitura de sua anterior.
- Determinar a média das diferenças de absorbância ( $\Delta$  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)

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

### TGP da Amostra (U/L) =

$$\frac{\Delta \text{ Abs /min (amostra)}}{\Delta \text{ Abs /min (Calib)}} \times \text{concentração Calib (U/L)}$$

### EXEMPLO:

Absorbância com o Calibrador  
A1= 0,045 / A2= 0,075 / A3= 0,147

$$\text{Média } \Delta \text{ Abs/min} = \frac{(0,095 - 0,085) + (0,125 - 0,095)}{2}$$

Média  $\Delta$  Abs/min (calib) = 0,02  
Média  $\Delta$  Abs/min (amostra) = 0,0125 (calc. 1 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 450 U/L. Amostras com valores superiores a 450 U/L devem ser diluídas com solução salina a ponto de ficarem entre 1,2 - 450 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. 1,2 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.

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

### APRESENTAÇÃO.

Linha Bioquímica Geral: 1 x 200mL  
Linha Bulk: 1 x 500mL

### REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.

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

### SÍMBOLOS UNIVERSAIS UTILIZADOS EM EMBALAGENS DE DIAGNÓSTICO IN VITRO

 CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO	 REAGENTE	 FABRICADO POR
 O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTES	 DATA DE VALIDADE (ÚLTIMO DIA DO MÊS)	 NÚMERO DO LOTE
 LIMITE DE TEMPERATURA (CONSERVAR A)	 PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO	 NÚMERO DO CATÁLOGO