

<b>Inserir o nome do Laboratório</b>	<b>Procedimento Operacional Padrão QUMIALT – ALT/TGP</b>	<b>Página 1 de 3 POPBIOxxx/xx</b>
--------------------------------------	--	---------------------------------------

### USO

Reação enzimática para determinação quantitativa da alanina aminotransferase (ALT) em amostras de soro e plasma humano. 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 a 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:

ALT

L-Alanina + 2-Oxoglutarato----->Piruvato + L-Glutamato

LDH

Piruvato + NADH -----> L-Lactato + NAD

### METODOLOGIA

UV

### SIGNIFICADO CLÍNICO

ALT esta 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 toxica e icterícia obstrutiva. A ALT esta geralmente mais alta que o AST em hepatite toxica 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.

### PRODUTO UTILIZADO

QUIMIALT – ALT/TGP MS: 10159820101

Fabricante: Ebram Produtos Laboratoriais Ltda.

Rua Julio de Castilhos, 500.

Belenzinho – São Paulo –SP – Brasil - CEP: 03059-001

Para maiores informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM:

Tel. (011) 2291-2811 ou [sac@ebram.com](mailto:sac@ebram.com)

### REAGENTES

Reagente único pronto para uso. Conservar entre 2 - 8 °C. Contem: 2 - Oxoglutarato 13 mmol/L, L-Alanina 440mmol/L, NADH 0.12mmol/L, LDH > 2000 U/L, Tampao Tris 97mmol/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 possui estabilidade de 3 meses desde que armazenado de 2 a 8°C, e on board (no compartimento refrigerado do analisador), a estabilidade depende da eficiência da refrigeração do equipamento e, por isso, pode variar de 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 ESPECIAIS

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.

<b>Inserir o nome do Laboratório</b>	<b>Procedimento Operacional Padrão QUMIALT – ALT/TGP</b>	<b>Página 1 de 3 POP BIOxxx/xx</b>
--------------------------------------	--	--

Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos.

Não usar se a absorvância inicial estiver abaixo de 0,9 (convertido para 1,0 cm de espaço ótico) quando medido a 340nm ou se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco.

#### **AMOSTRA**

É recomendado soro e plasma livre de hemólise, pois as hemácias contem ALT. A ALT na amostra é estável por 3 dias se armazenada de 15 a 25°C, por 7 dias de 2 a 8°C e por 30 dias a -20°C.

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 de 4 horas. Todavia, poderá ser modificado segundo orientação medica.

#### **MATERIAL NECESSÁRIO NÃO FORNECIDO**

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

#### **PROCEDIMENTO**

##### • **Procedimento automático:**

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

Aplicação no sistema semiautomático: proceder como demonstrado a seguir no procedimento manual somente ate 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.
Agua destilada	100µL	-	-
Calibrador	-	100µL	-
Amostra/S.C.	-	-	100µL
Reagente	1,0mL	1,0mL	1,0mL

2. Adicionar 1,0mL do reagente em dois tubos e deixe em banho-maria (BM) a 37°C O nível de agua no BM deve ser superior ao nível de reagentes nos tubos de ensaio.
3. Adicionar 100µL do calibrador e 100µL de agua destilada em cada tubo.
4. Aguardar 30 segundos.
5. Zerar o espectrofotômetro a 340nm com o tubo do branco.
6. Inserir no equipamento o tubo com o calibrador e registrar as absorvâncias A1, A2, A3, considerando A1 a primeira leitura (logo apos os 30 segundos de retardo) e as seguintes com 1 minuto de intervalo.
7. Determinar as duas diferenças de absorvância/min ( $\Delta$  Abs/min), subtraindo cada leitura de sua anterior.

<b>Inserir o nome do Laboratório</b>	<b>Procedimento Operacional Padrão QUMIALT – ALT/TGP</b>	<b>Página 1 de 3 POPBIOxxx/xx</b>
--------------------------------------	--	---------------------------------------

8. Determinar a media 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 1,0mL e podem ser ajustados proporcionalmente sem influencia no desempenho do teste. Salientamos que volumes de amostras menores do que 10 $\mu$ L aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

### CÁLCULOS

(Abs.= Absorbância)

(Conc. = Concentração)

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

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

### RESULTADOS

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

### LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- **Linearidade / Sensibilidade**

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

Amostras com valores superiores a 400 U/L (0,34  $\Delta$  Abs/min) devem ser diluídas com solução salina a ponto de ficarem entre 5 - 400 U/L e os resultados devem ser multiplicados pelo fator de diluição.

Sensibilidade: 5 U/L

- **Interferências:**

Amostras hemolisadas podem elevar os resultados, uma vez que a atividade do AST e 15 vezes maior nos eritrócitos do que no soro normal. Amostras lipemicas podem apresentar absorbâncias iniciais que excedem a capacidade do espectrofotômetro. Dilua a amostra com solução salina e repita o teste multiplicando o resultado pelo fator de diluição. Citrato e flúor inibem a atividade enzimática. Algumas drogas e substancias afetam a concentração do AST, sugerimos consultar Young et al.

### 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 agua utilizada no laboratorio 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 (agua tipo II). Para o enxague da vidraria a agua pode ser do tipo III, com resistividade  $\geq 0,1$  mega ohms ou condutividade  $\leq 10$  microsiemens. No enxague final utilizar água tipo II.

### REFERÊNCIAS

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).

<b>Inserir o nome do Laboratório</b>	<b>Procedimento Operacional Padrão QUMIALT – ALT/TGP</b>	<b>Página 1 de 3 POPBIOxxx/xx</b>
--------------------------------------	--	---------------------------------------

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.

	<b>Nome</b>	<b>Assinatura</b>	<b>Data</b>
Elaborado por			
Aprovado por			
Revisado por			
Desativado por			
Razão			

VER: Nov/20