



QUIMIALT - ALT/TGP

Alanina Aminotransferase

REG. MS: 10159820101

EGRAM 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@ebram.com | www.ebram.com

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 vírais 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 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. 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°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 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 media 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	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.

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.

3. Adicionar 100 μ L do calibrador e 100 μ L de água 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 absorbâncias A1, A2, A3, considerando A1 a primeira leitura (logo após os 30 segundos de retardo) e as seguintes com 1 minuto de intervalo.
7. Determinar as duas diferenças de absorbância/minuto (Δ Abs/min), subtraindo cada leitura de sua anterior.
8. 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 μ L 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

$$A1 = 0,045 / A2 = 0,075 / A3 = 0,147$$

Média Δ Abs/min =

$$\frac{(0,095 - 0,085) + (0,125 - 0,095)}{2}$$

Média Δ Abs/min (calib) = 0,02

Média Δ Abs/min (amostra) = 0,0125 (calc. I dem acima)

Concentração do Calibrador = 106 U/L

$$\text{TGP Amostra} = (0,0125 / 0,02) * 106$$

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)
Coeficiente 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 foi 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 duplícata. 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.

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 $\geq 0,1$ megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágue final utilizar água tipo II.

APRESENTAÇÃO.

Linha Bioquímica Geral: 1 x 200mL

Linha Bulk: 1 x 500mL

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.

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