

**Método**

Cinético-UV

**Finalidade**

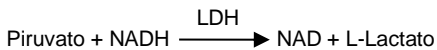
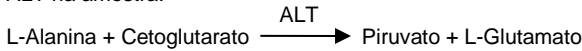
Sistema para a determinação da Alanina Amino Transferase (ALT) ou Transaminase Glutâmico Pirúvica (TGP) no soro ou plasma.

**Somente para uso diagnóstico in vitro.**

**Princípio**

A ALT catalisa a transferência do grupo amina da alanina para o cetoglutarato com formação de glutamato e piruvato. O piruvato é reduzido a lactato por ação da lactato desidrogenase (LDH), enquanto que a coenzima NADH é oxidada a NAD.

A oxidação da coenzima NADH é diretamente proporcional à atividade da ALT na amostra.



**Significado Clínico**

Elevações das transaminases ocorrem nas hepatites (viral e tóxica), na mononucleose, cirrose, colestase, carcinoma hepático primário ou metastático, pancreatite, traumatismo extenso e no choque prolongado. Valores de ALT são iguais ou superiores aos de AST na maioria dos pacientes com hepatite viral, icterícia pós-hepática ou colestase intra-hepática.

Nos casos de cirrose hepática, hepatite alcoólica ou carcinoma metastático, os valores de ALT são inferiores aos de AST. Elevações de ALT também são relatadas na polimiosite, dematomiosite e rabdomiólise. No infarto agudo do miocárdio os valores de ALT encontram-se dentro do intervalo de referência ou ligeiramente aumentados.

**Reagentes**

**Reagente nº 1 – Substrato** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Tampão Hepes 140 mmol/L (pH 7,5), L-alanina 750 mmol/L, LDH > 2300 U/L e azida sódica 0,1 g/dL e estabilizante.

**Reagente nº 2 – Coenzima** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: NADH 1,3 mmol/L, alfa-cetoglutarato 75 mmol/L e azida sódica 0,1 g/dL e estabilizante. (pH 9,5).

**Estabilidade, Condições de Armazenamento e Transporte**

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo do produto, quando conservados na temperatura recomendada (2 a 8°C), bem vedados e se evitado de contaminação durante o uso. Antes de serem abertos, os reagentes podem ser transportados em temperatura que não exceda 30°C, até um limite de 120 horas. **Não congelar.**

**Cuidados Especiais e Precauções**

- As amostras a serem analisadas devem ser tratadas como material potencialmente infectante.
- Utilizar os EPI's de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico.
- O Substrato (1) e o Coenzima (2) contêm azida sódica que é tóxica e irritante para pele e mucosa.
- As informações de Descarte, Segurança e Primeiros Socorros estão descritas na Ficha Individual de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) deste produto, disponível em [www.bioanalitica.com.br](http://www.bioanalitica.com.br) ou pelo telefone 0800 006 8111.
- Reagentes de lotes diferentes não devem ser misturados.
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada.
- Leituras de absorbância inferiores a 0,800 do Reagente de Trabalho, indicam perda do mesmo. Neste caso, não utilizar o reagente.
- Não utilizar os reagentes quando se apresentarem turvos.
- Evitar deixar os reagentes fora das condições de armazenamento especificadas, quando os mesmos não estiverem em uso.
- O tempo de reação, pipetagens e temperatura de trabalho são muito importantes para obtenção de resultados corretos.
- Usar pipetas de vidro e ponteiros descartáveis específicas para cada amostra, controle, padrão/calibrador e reagente.

**Materiais Necessários e Não Fornecidos**

- Analisador bioquímico automático, semiautomático ou espectrofotômetro;
- Pipetas de vidro e/ou automáticas;
- Ponteiros;
- Tubos de ensaio;
- Cronômetro.

**Amostra**

Soro ou plasma (EDTA/Heparina). O analito é estável por 4 dias entre 2 a 8°C e 2 semanas a 10°C negativos quando livres de contaminação.

Para descarte dos reagentes e materiais biológicos devem-se seguir as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

**Interferências e Limitações**

Em mulheres de todas as idades a atividade enzimática da ALT é sempre mais baixa do que a dos homens. Após a realização de exercícios físicos a atividade enzimática da ALT é elevada.

O uso de esteroides anabólicos, clorotiazida, cloranfenicol, uso prolongado de aspirina, gentamicina e algumas outras drogas podem elevar a atividade da ALT.

Concentrações de bilirrubina até 7,17 mg/dL, triglicérides até 500 mg/dL e hemoglobina até 331 mg/dL não produzem interferências significativas. Valores de ácido ascórbico maior que 4,0 mg/dL produzem interferências significativas nas amostras.

**Procedimento Técnico**

**Preparo do Reagente de Trabalho**

Misturar 4 partes do Reagente nº 1 com 1 parte do Reagente nº 2. O Reagente de Trabalho é estável 72 horas entre 15 e 30°C e 14 dias entre 2 e 8°C.

**Equipamentos Automáticos**

Para uso em analisadores automáticos, verificar o protocolo de automação no site [www.bioanalitica.com.br](http://www.bioanalitica.com.br) ou através do SAC.

**Nota:** Recomendamos o uso do Calibrador – Ref. BA052 para calibração. Para avaliar a precisão das dosagens, recomendamos o uso do Controle N – Ref. BA115 e Controle P – Ref. BA118.

**Procedimento do Teste**

Adicionar 100 µL de Amostra a 1,0 mL do Reagente de Trabalho, homogeneizar e transferir imediatamente para cubeta termostaticada à 37°C e esperar 1 minuto. Fazer a leitura inicial, disparando simultaneamente o cronômetro. Repetir as leituras após 1, 2 e 3 minutos. Calcular a média das diferenças de absorbância por minuto ( $\Delta A/\text{min.}$ ) e utilizar para cálculo do resultado.

**Cálculos e Exemplos**

O método cinético baseia-se na absorvidade molar. Por essa razão, as leituras devem ser realizadas em um espectrofotômetro que cumpra as seguintes condições:

- Comprimento de onda 340 nm
- Banda de passagem  $\leq 2$  nm
- Luz espúria menor que  $\leq 0,1\%$
- Cubeta de 1,0 cm de espessura interna, termostaticada a 37°C.

Atendendo essas condições, pode se optar pela utilização do fator teórico 1746.

$$\Delta A/\text{min} = \text{Variação média da absorbância por minuto}$$

**Exemplo:**

$\Delta A/\text{minuto do teste} = 0,034$   
Atividade ALT em U/L =  $\Delta A \text{ teste} \times 1746$   
Atividade ALT =  $0,034 \times 1746 = 59 \text{ U/L}$   
Os resultados deverão ser expressos em U/L.

**Nem sempre é possível trabalhar sob essas condições, por isso recomendamos a utilização do Calibrador – Ref. BA052.**

**Características do Desempenho**

**Comparação de Métodos**

O método foi comparado com outro produto com metodologia semelhante através de 40 amostras de soro humano. Através de modelos estatísticos, os resultados foram analisados e resultaram na equação de regressão linear onde Método Bioanalítica (y) =  $0,817 + 0,975 \times$  Método comparativo (x) e coeficiente de correlação igual a 0,998.

**Sensibilidade**

Uma amostra proteica não contendo ALT/TGP, foi utilizada para calcular o limite de detecção do ensaio. A média encontrada foi 0,9700 U/L equivalente a 20 determinações, com desvio padrão de 0,0775 U/L.

A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde à média mais 3 vezes o desvio padrão, que é igual a 1,2024 U/L.

#### Linearidade

A reação é linear até 400 U/L. Para amostras com valores acima de 400 U/L, diluir a amostra com Cloreto de Sódio 0,85%, repetir a dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

#### Repetitividade

A repetitividade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração média (U/L)	3,99	10,15	86,29
Desvio padrão (U/L)	0,20	0,37	1,78
Coefficiente de Variação (%)	4,94	3,63	2,06

#### Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas durante 20 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração média (U/L)	3,78	26,61	53,41
Desvio padrão (U/L)	0,18	1,26	2,80
Coefficiente de Variação (%)	4,85	4,75	5,25

#### Valores de Referência

Estes valores de referência devem ser usados apenas como orientação. Sugere-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores para população atendida. Os resultados dos testes devem ser analisados por um profissional responsável.

Idade	Masculino (U/L)	Feminino (U/L)
1 - 30 dias	20 - 54	21 - 54
1 - 6 meses	26 - 55	26 - 61
7 - 12 meses	26 - 59	26 - 55
1 - 3 anos	19 - 59	24 - 59
4 - 11 anos	24 - 49	24 - 49
12 - 15 anos	24 - 59	19 - 44
Adultos	11 - 45	10 - 37

Para converter os valores de U/L (SI) multiplicar por 16,7.

#### Controle Interno da Qualidade

O laboratório clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, para assegurar que todos os procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente definidos. Ressaltamos que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica, que deve ser monitorada pelos laboratórios. Portanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens. Sugere-se utilizar soluções estabilizadas da linha de controles e calibradores da Bioanalítica.

#### Observações

- A limpeza e secagem adequadas do material usado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes. A limpeza da vidraria deve ser feita com detergente neutro. O enxágue deve ser exaustivo sendo os últimos com água destilada ou deionizada.
- A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, a água deve ser do Tipo II, com resistividade > 1 megahms/cm ou condutividade < 1 microsiemens/cm e concentração de silicatos < 0,1 mg/L. Para o enxágue inicial da vidraria, a água pode ser do Tipo III, com resistividade > 0,1 megahms ou condutividade < 10 microsiemens. No enxágue final, utilizar água do Tipo II. Coluna deionizadora com sua capacidade saturada libera água alcalina, vários íons e também substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando de maneira imprevisível os resultados. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

#### Referências Bibliográficas

- 1 - Bergmeyer HV; Scheibe P.; Wahlefeld A.W., Clin., Chem., 1.978, 24, 58 - 73.
- 2 - Westgard JO, Groth T. Clin. Chem. 1981; 27:493-501.
- 3 - Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Fundamento de Química Clínica, 4ª Ed - Guanabara Koogan SA; 1998.
- 4 - IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. J Clin Chem Clin Biochem 1986; 24:481-495.
- 5 - Scandinavian Committee on Enzymes Scand J. Clin Lab Invest, 1.981, 41, 107 - 116.
- 6 - Karmen A. J Clin Invest 1955; 34:131.
- 7 - Henry RJ, Chiamori N, Golub O, Berkman S. Amer J Clin Path 1960;34:381.
- 8 - Soldin SJ, Brugnara C, Wong EC, Pediatric Reference Intervals, 5.ed. Washington: AACC Press, 2005.p.3-4.
- 9 - Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2.ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1994. p. 788-96.
- 10 - Bioanalítica: Dados internos de arquivo do P&D.

#### Termos e Condições de Garantia

A Bioanalítica Diagnóstica garante o desempenho e a qualidade deste produto, dentro das especificações, até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que utilizados, armazenados e transportados nas condições adequadas.

#### Apresentações

Ref.	Volume	Reagente 1	Reagente 2
BA364-50	50 mL	1 x 40 mL	1 x 10 mL
BA364-100	100 mL	2 x 40 mL	2 x 10 mL
BA364-200	200 mL	4 x 40 mL	4 x 10 mL

#### Bioanalítica Diagnóstica S/A.

Rua Álvares da Silva, 12 - União  
CEP: 31160-360 - Belo Horizonte MG - Brasil  
Tel. +55 31 3657-0051  
www.bioanalitica.com.br  
E-mail: bioanalitica@bioanalitica.com.br  
CNPJ: 20.264.948/0001-61 - Indústria Brasileira  
SAC: 0800 006 8111  
E-mail: sac@bioanalitica.com.br

Revisão: Outubro / 2022.