

## FINALIDADE

Sistema cinético para determinação de ALT/TGP no soro ou plasma.

**Somente para uso diagnóstico *in vitro*.**

## PRINCÍPIO



A alanino aminotransferase (ALT/TGP) cataliza a transferência do grupo amino da alanina para o 2-oxoglutarato, formando piruvato e glutamato. O piruvato é reduzido a lactato por ação da lactato desidrogenase (LDH), e a coenzima NADH é oxidada a NAD<sup>+</sup>. A coenzima NADH tem um coeficiente de absorção molar elevado em 340 nm, sendo quase nula a absorção de NAD em 340 nm. A oxidação de NADH é diretamente proporcional à atividade da ALT/TGP. A atividade enzimática é então calculada através da diminuição da absorvância da solução de NADH em 340nm.

## METODOLOGIA

Cinético, ultravioleta.

## REAGENTES

**Reagente 1:** Tris 150mmol/L, L-alanina 750mmol/L, lactato desidrogenase >1350U/L, pH 7,3.

**Reagente 2:** NADH 1,3mmol/L, 2-Oxoglutarato 75mmol/L.

## APRESENTAÇÃO

### ALT/TGP Cinética Ref.50 (NOVA APRESENTAÇÃO)

|            |         |
|------------|---------|
| Reagente 1 | 5 x 8mL |
| Reagente 2 | 5 x 2mL |

### ALT/TGP Cinética Ref.100

|            |          |
|------------|----------|
| Reagente 1 | 5 x 16mL |
| Reagente 2 | 5 x 4mL  |

## NÚMERO DE TESTES

### ALT/TGP Cinética Ref.50

|               |            |
|---------------|------------|
| Manual        | 50 testes  |
| Automação (*) | 200 testes |

### ALT/TGP Cinética Ref.100

|               |            |
|---------------|------------|
| Manual        | 100 testes |
| Automação (*) | 400 testes |

**(\*) A quantidade de testes na automação é variável de acordo com o equipamento.**

**Protocolos de automação encontram-se disponíveis no site Doles ou através do Serviço de Atendimento ao Consumidor.**

## EQUIPAMENTOS E MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro com leituras em 340nm, cubeta termostatzável, com 10mm de passagem de luz e banda espectral de 8nm ou menos.
- Pipetas graduadas.
- Pipeta semiautomática de 100µL.
- Ponteiras descartáveis.
- Cronômetro.

## ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

**Reagente 1:** armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, se obedecidas as condições de armazenamento.

**Reagente 2:** armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, se obedecidas as condições de armazenamento.

**Reagente de Trabalho:** armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável por 02 meses após o preparo.

## CUIDADOS E PRECAUÇÕES COM O USO DOS REAGENTES

Os reagentes são somente para **uso diagnóstico *in vitro***. Seu manuseio deve ser cuidadoso, evitando-se contato com pele e mucosas. Em caso de contaminação acidental, lavar a parte afetada em água corrente. O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se aos critérios de biossegurança estabelecidos pelo laboratório, de acordo com as normas locais, estaduais ou federais.

Observar ainda a simbologia constante nos rótulos do produto:



Irritante

## AMOSTRA

Soro ou plasma. O uso de heparina, EDTA, oxalato e citrato não inibem a atividade da enzima.

A atividade enzimática mantém-se inalterada por 4 dias, à temperatura de 2-8°C e 2 semanas a 10°C negativos.

**Todas as amostras biológicas devem ser consideradas como potencialmente infectantes.**

## PROCEDIMENTO TÉCNICO

### • Preparo do Reagente de Trabalho

**Opção 1:** Transferir todo o conteúdo do reagente 2 para o frasco de reagente 1 e homogeneizar. Armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável por 02 meses após o preparo.

**Opção 2:** Misturar 4mL do Reagente 1 com 1mL do Reagente 2 (não pipetar com a boca) e homogeneizar. Armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável por 02 meses após o preparo.

## Realização do teste

1. Transferir 1mL do reagente de trabalho para um tubo de ensaio e deixá-lo por alguns minutos à temperatura ambiente.
2. Adicionar 100µL da amostra ao reagente de trabalho e homogeneizar com ligeira agitação.
3. Transferir a solução para a cubeta termostatzada a 30°C/37°C (por aspiração em equipamentos dotados de cubeta de fluxo).
4. Esperar 1 minuto.
5. Fazer a leitura inicial em absorvância, disparando simultaneamente o cronômetro. Anotar o achado.
6. Repetir as leituras em intervalos de 1, 2 e 3 minutos.
7. Calcular a média das diferenças de absorvâncias por minuto ( $\Delta A/\text{minuto}$ ), utilizando-a para calcular o resultado.
8. Processando-se a reação enzimática a 30°C, o resultado encontrado pode ser expresso em temperatura de 37°C, multiplicando-se o valor encontrado por 1,59. Inversamente, valores a 37°C podem ser expressos a 30°C dividindo-se o valor encontrado por 1,59.

## CÁLCULO

$\text{ALT UI/L} = \Delta A/\text{minuto} \times 1746$

### Exemplo :

Leitura inicial (após 1 minuto de incubação) = 1.373

Leitura (1º minuto) = 1.345  $\Delta A = 1.373 - 1.345 = 0.028$

Leitura (2º minuto) = 1.317  $\Delta A = 1.345 - 1.317 = 0.028$

Leitura (3º minuto) = 1.289  $\Delta A = 1.317 - 1.289 = 0.028$

$$\Delta A/\text{minuto} = \frac{\Delta A \text{ 1º minuto} + \Delta A \text{ 2º minuto} + \Delta A \text{ 3º minuto}}{3}$$

$$\Delta A/\text{minuto} = \frac{0.028 + 0.028 + 0.028}{3} = 0.028$$

$$\text{ALT UI/L} = 0,028 \times 1746 = 48,9$$



## DETERMINAÇÃO DO FATOR

$$\text{ALT (atividade U.I./L)} = \frac{\Delta A}{\min} \times \frac{1}{6,3} \times \frac{1,1}{0,1} \times 1000 = \Delta A \times 1746$$

6,3 = absorção molar de NADH+ (um mmol de NADH+ em um mililitro de solução, cubeta de 10mm diâmetro interno, 340nm tem uma absorvância de 6,3).

1,1 = volume total da reação

0,1 = volume de soro

1000 fator / transformação de mililitro em litro.

## LINEARIDADE

A reação é linear até uma concentração, aproximada, de 350U.I./L o que corresponde a um  $\Delta A/\text{minuto de } 0.200$ . Sendo o  $\Delta A/\text{minuto} \geq 0.200$  diluir a amostra com solução fisiológica e repetir o teste. Multiplicar o valor encontrado pelo fator de diluição.

## LIMITAÇÕES DO SISTEMA

- Para se obter ótimo desempenho do sistema, é necessário que o procedimento técnico seja rigorosamente seguido conforme instruções de uso. Alterações no procedimento técnico podem levar a resultados errôneos.
- Altas concentrações de piruvato na amostra consomem o NADH durante a fase de incubação, com resultados falsamente baixos.
- Se a absorvância do reagente de trabalho for inferior a 0,800, não utilizá-lo pois o mesmo está deteriorado.

## CONTROLE DA QUALIDADE DO SISTEMA

1. A limpeza e a secagem adequada do material a ser utilizado são de fundamental importância para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
2. As pipetagens devem ser precisas.
3. O uso de soro controle de referência deve ser uma prática rotineira do laboratório. Recomenda-se utilizar um soro controle com valor na faixa de normalidade (**soro controle N - Doles**) e outro soro controle de valor elevado (**soro controle P - Doles**).

## VALORES DE REFERÊNCIA

É recomendado que cada laboratório estabeleça, na população atendida, sua própria faixa de valores de referência.

Como orientação, sugerimos os seguintes valores:

7 - 32 U.I./L (30°C)

8 - 42 U.I./L (37°C)

## SIGNIFICADO CLÍNICO

A ALT é encontrada predominantemente no hepatócito, sendo de localização citoplasmática. Agressões ao hepatócito (vírus, medicamentos, toxinas) levam a liberação da ALT. Os níveis mais elevados de ALT sérica são encontrados nas hepatites virais agudas, podendo os mesmos atingir a milhares de U.I./L. Não existe paralelismo entre o nível sérico de ALT e gravidade da lesão. A relação AST/ALT é sempre inferior a 1 nas hepatites virais agudas, sendo, frequentemente maior que 1 nas hepatopatias crônicas.

## CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Foram realizadas 40 dosagens em amostras cujos níveis de ALT situavam-se no intervalo de 9 e 345U.I./L. As mesmas feitas em paralelo com o kit ALT Doles (Y) e um produto comercial com metodologia similar (ROCHE) (X) deram origem à seguinte equação de regressão linear:  $Y = 1,04X - 1,07$  sendo o coeficiente de correlação 0,99.

## Repetitividade:

Foram realizadas 20 dosagens sucessivas, com 2 amostras, obtendo-se os seguintes resultados:

|                                    | Amostra 1 | Amostra 2 |
|------------------------------------|-----------|-----------|
| <b>Concentração (U.I./L)</b>       | 20,8      | 66,7      |
| <b>Desvio padrão</b>               | 0,93      | 1,25      |
| <b>Coeficiente de variação (%)</b> | 4,47      | 1,87      |

## Reprodutibilidade:

Foram realizadas 20 dosagens durante 20 dias consecutivos, obtendo-se os seguintes resultados:

|                                    | Amostra 1 | Amostra 2 |
|------------------------------------|-----------|-----------|
| <b>Concentração (U.I./L)</b>       | 24,2      | 54,9      |
| <b>Desvio padrão</b>               | 1,13      | 1,34      |
| <b>Coeficiente de variação (%)</b> | 4,67      | 2,44      |

**Especificidade:** a presente metodologia é específica para determinação ALT.

**Sensibilidade:**  $\Delta A/\text{minuto}$  de 0.001 corresponde a 1,75U.I./L de concentração de ALT quando medida em espectrofotômetro de alta resolução, passagem de luz de 10 mm, 340nm e temperatura de 30°C. A sensibilidade do sistema está estreitamente relacionada com a sensibilidade do aparelho utilizado no laboratório.

**Substâncias interferente:** algumas drogas podem alterar os níveis de ALT (ver Young D.S. et al., Clin. Chem. 21 (5), 1975 (special issue).

## BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- Kaplan, L.A, Pesce, A.J., Chincal Chemistry, 3ªed, 514-516, 1996.
- Pagana K.D., Pagana T.J., Diagnostic and Laboratory Test Reference, 18-19, 1992.
- Anderson S.C., Cockayne S., Clinical Chemistry Concepts and Applications, 240-262, 1993.
- Burtis, C.A, Ashwood, E.D., Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2ªed., 788-797, 1994.
- Henry, J.B., *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 268-280, 19ª edição, 1996.
- Tibúrcio, H.M.: *Controle interno da qualidade analítica*, 1ªed. março/1995.
- Doles: dados de arquivo.

## TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

As garantias do fabricante ao consumidor seguem estritamente as relacionadas na Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1.990 - **Código de Defesa do Consumidor**.

Todos os reagentes que compõem este sistema para diagnóstico são garantidos na sua performance, reprodutibilidade e qualidade até a data de vencimento dos mesmos, se obedecidas as condições abaixo:

1. O usuário do sistema seguir, rigorosamente, o procedimento técnico.
2. As condições de armazenamento deverão estar de acordo com o estabelecido nas instruções de uso.
3. Os materiais necessários e não fornecidos deverão estar em boas condições técnicas.

**Todos os produtos que apresentarem problemas técnicos comprovados serão substituídos, sem ônus para o consumidor.**

Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda.

CNPJ: 01.085.513/0001-05

Rodovia BR 153, Km 1273, Lt.07, Chácara Retiro

CEP: 74001-970 Goiânia - GO - Brasil

Caixa Postal 1051

e-mail: doles@doles.com.br

www.doles.com.br

M.S.: nº 10231810066

Revisão: 14 (06/2009)

## NBR ISO 9001:2000

**Sistema da Qualidade certificado desde 1999**

