

GPT (ALAT) IFCC MOD.

MÉTODO:

Cinético UV.

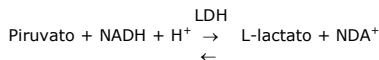
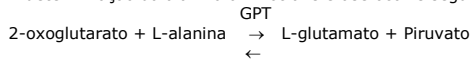
FINALIDADE:

Reagentes para a determinação da atividade da alanina aminotransferase (GPT) em amostras de soro e plasma humanos.
Somente para uso diagnóstico IN VITRO.

FUNDAMENTO:

O método cinético para a determinação da atividade da GPT (ALAT) está de acordo com as recomendações da IFCC (Internacional Federation of Clinical Chemistry). Sem ativação com piridoxalfosfato.

A determinação da alanina aminotransferase ocorre segundo as reações:



SIGNIFICADO CLÍNICO:

Nos pacientes com infarto do miocárdio seus níveis de elevação sérica são leves ou ausentes. Entretanto, na insuficiência cardíaca ou no choque com necrose hepática presente podemos ter níveis elevados. A aplicação principal da determinação desta enzima sérica está no diagnóstico da destruição hepatocelular.

Na doença hepatocelular a GPT está acentuadamente elevada. Na hepatite viral seu pico ocorre aproximadamente na primeira ou segunda semana do início da infecção, diminuindo na terceira ou quinta semana.

Valores alterados são encontrados na cirrose, na doença biliar, carcinoma metastático do fígado.

O valor de GPT persistentemente provou ser útil no diagnóstico da presença da hepatite viral não-A e não-B.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:

Conservar entre 2 a 8°C.

Reagentes.

BUF- Tampão: Tampão TRIS (pH 7,5) 125 mmol/L; L-alanina ~ 625 mmol/L; LDH ≥ 1,5 KU/L; Azida sódica 0,095%.

SUB- Substrato: 2-oxoglutarat 75 mmol/L; NADH ~ 0,9 mmol/L; Azida sódica 0,095%.

PREPARO DO REAGENTE DE USO:

Adicionar 2 mL do SUBSTRATO (SUB) à 8 mL do TAMPÃO (BUF) e homogeneizar.

ESTABILIDADE:

Os reagentes são estáveis, mesmo após abertos, até a data de validade impressa no rótulo, quando armazenados a 2 - 8°C e protegidos da luz. Evitar contaminação dos reagentes.

O reagente de uso é estável por 4 semanas a 2 a 8°C ou 5 dias a 15 a 25°C.

TRANSPORTE:

O transporte do kit deve ser feito pela rota mais direta evitando-se as chegadas nos finais de semana e feriados no local de destino. O kit não é afetado pelo transporte desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 07 dias e em uma temperatura de até 37°C.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES:

- Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente. O BUF e o SUB contêm azida sódica como conservante. Não ingerir ou aspirar. Evitar contato com a pele e mucosa;
- Como não se pode assegurar que amostras biológicas e soros controle não transmitem infecções, recomenda-se manuseá-las de acordo com as instruções de biossegurança.
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.

AMOSTRA BIOLÓGICA:

- SORO, PLASMA (Heparina, EDTA).
- Evitar amostras com hemólise.
- Estabilidade em soro e plasma é de 4 dias quando armazenado a 20 - 25°C, 7 dias quando armazenado a 4 - 8°C e 3 meses quando armazenado a -20°C.
- Plasmas fluoretados e oxalatos causam inibição nos resultados.
- O transporte de amostra biológica, quando necessário, deve ser feito pela rota mais direta e evitando sua chegada nos finais de semana e feriados no local de destino. A amostra biológica deve ser acondicionada em recipiente ermeticamente fechado, em seguida embalada de forma a mantê-la em temperatura recomendada (2 a 8°C) desde o remetente até a entrega ao destinatário. Esta amostra deve ser identificada com o símbolo de amostra biológica.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Fotômetro UV.
- Pipetas.
- Cronômetro.
- Banho ou incubador.

MÉTODO DE ANÁLISE:

A. Termostatar o reagente de uso na temperatura desejada. A temperatura deve permanecer constante ($\pm 0,5^\circ\text{C}$) durante a execução do teste.

B. Leitura em espectrofotômetro:

Comprimento de onda: Hg 365 nm, 334 nm, e 340 nm.
Cubeta: 1 cm
Temperatura: 25°C, 30°C, 37°C
Medida: Contra o ar (decréscimo de absorbância)

C. PROCEDIMENTO:

Pipetar nas cubetas	25°C, 30°C	37°C
Amostra	200 μL	100 μL
Reagente de Uso	1,0 mL	1,0 mL

Homogeneizar. Ler a absorbância inicial após 1 minuto.
Ao mesmo tempo acionar o cronômetro. Ler a absorbância novamente após exatamente 1, 2 e 3 minutos.

D. CÁLCULO:

- Calcular a média das diferenças das absorbâncias por minuto:

$$(\Delta A/\text{min}) = \frac{(A_1 - A_0) + (A_2 - A_1) + (A_3 - A_2)}{3}$$

- Para calcular a atividade de GPT (U/L) aplicar ao $\Delta A/\text{min}$ os seguintes fatores:

Temperatura	25°C, 30°C	37°C
$\Delta A/\text{min}$ (Hg 334 nm) x	971	1780
$\Delta A/\text{min}$ (340 nm) x	952	1745
$\Delta A/\text{min}$ (Hg 365 nm) x	1765	3235

Exemplo:

1) Temperatura: 25°C e comprimento de onda de 340 nm.

$A_0 = 1,300$

$A_1 = 1,282$

$A_2 = 1,265$

$A_3 = 1,249$

$$\Delta A/\text{min} = \frac{(1,282 - 1,300) + (1,265 - 1,282) + (1,249 - 1,265)}{3}$$

$$\Delta A/\text{min} = -0,017$$

$$\text{U/L} = -0,017 \times (-952) = 16 \text{ U/L}$$

2) Se o $\Delta A/\text{min}$ estiver entre 0,12 - 0,16 o cálculo será:

$A_0 = 1,300$

$A_1 = 1,180$

$A_2 = 1,050$

$$\Delta A/\text{min} = \frac{(1,180 - 1,300) + (1,050 - 1,180)}{2}$$

$$\Delta A/\text{min} = -0,125$$

$$\text{U/L} = -0,125 \times (-952) = 119 \text{ U/L}$$

Fator de conversão de unidades internacionais (U/L) para o sistema internacional -SI (Kat/L):

1 U/L = $16,67 \times 10^{-9}$ Kat/L = $16,67 \times 10^{-6}$ $\mu\text{Kat/L}$

1 $\mu\text{Kat/L}$ = 60 U/L

TÉCNICA ALTERNATIVA:

Pipetar nas cubetas	25°C, 30°C	37°C
Amostra	200 μL	100 μL
BUF	1,0 mL	1,0 mL

Homogeneizar, incubar por 5 minutos à temperatura desejada.

SUB	250 μL	250 μL
-----	-------------------	-------------------

Homogeneizar. Ler absorbância inicial após 1 minuto.

Ao mesmo tempo acionar o cronômetro.

Ler a absorbância novamente após exatamente 1, 2 e 3 minutos.

CÁLCULO:

- Calcular a média das diferenças das absorbâncias por minuto ($\Delta A/\text{min}$).
- Para calcular a atividade de GPT (U/L) aplicar ao $\Delta A/\text{min}$ os seguintes fatores.

Temperatura	25°C, 30°C	37°C
$\Delta A/\text{min}$ (Hg 334 nm) x	1173	2184
$\Delta A/\text{min}$ (340 nm) x	1151	2143
$\Delta A/\text{min}$ (Hg 365 nm) x	2132	3971

Exemplo:

Seguir o exemplo utilizado na técnica anterior, modificando o valor do fator para calcular a atividade de GPT na temperatura e no comprimento de onda adequados.

AUTOMAÇÃO:

Adaptação especial para analisadores pode ser fornecida quando solicitada.

LINEARIDADE DA REAÇÃO:

Se a média das diferenças das absorbâncias por minuto ($\Delta A/\text{min}$) for superior a 0,160 (190 a 25/30°C e 350 a 37°C) para Hg 334 nm e 340 nm ou 0,080 (170 a 25/30°C e 320 a 37°C) para Hg 365 nm, como mostra na tabela abaixo.

Comprimento de onda (nm)	$\Delta A/\text{min}$	25°C, 30°C (U/L)	37°C (U/L)
Hg 365	0,080	170	320
Hg 334/340	0,160	190	350

Diluir 0,1 mL da amostra com 0,9 mL de solução salina (0,9%) e repetir o teste. Multiplicar o resultado por 10.

1- Em soros com atividades muito altas a absorvância inicial pode ser muito baixa devido ao fato de todo NADH ter sido imediatamente consumido antes da primeira leitura. Neste caso diluir 0,1 mL da amostra com 0,9 mL de solução salina fisiológica (0,9%) e repetir o teste. Multiplicar o resultado por 10.



Produto Diagnóstico In Vitro



Data de Fabricação

VALORES DE REFERÊNCIA:

Temperatura	25°C	30°C	37°C	IFCC*
Homem	até 22 U/L	até 30 U/L	até 42 U/L	45 U/L
Mulher	até 17 U/L	até 23 U/L	até 32 U/L	34 U/L

*Ativação com piridoxalofosfato.

CONTROLE DE QUALIDADE:

Todo soro controle contendo valores determinados pelo método cinético-UV para o GPT pode ser empregado. Recomendamos o uso de nossos soros controle HUMATROL e SERODOS.

SENSIBILIDADE:

2,905 U/l.

RECUPERAÇÃO EM SOROS CONTROLES:

Soros controle comerciais disponíveis foram usados. Os soros controle foram reconstituídos/preparados de acordo com as instruções do fabricante. Cinco determinações de cada soro controle foram feitas com reagentes de GPT cinético UV de diferentes lotes. A média dos valores foi calculada e comparada com a média fornecida pelos respectivos soros controle.

REPETIBILIDADE:

	N	MÉDIA	DP	CV%
Amostra (valor baixo)	6	48,73	0,93	1,92
Amostra (valor médio)	6	142,34	1,56	1,10
Amostra (valor alto)	6	151,26	1,28	0,85

REPRODUTIBILIDADE:

	N	MÉDIA	DP	CV%
Amostra (valor baixo)	36	48,73	0,97	1,99
Amostra (valor médio)	36	142,46	1,42	1,00
Amostra (valor alto)	36	151,26	1,55	1,03

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:

O kit GPT cinético UV foi comparado com outros métodos para dosagem do GPT comercialmente disponíveis. Soros controle assim como 41 amostras de pacientes foram usados na comparação. Foram avaliados os resultados obtidos pelos métodos utilizados e também através de uma equação de regressão não-paramétrica de acordo com Bablok & Passing. A equação da regressão linear obtida foi: $Y = 1.027 X + -0.325$, e o coeficiente de correlação igual a $r = 0,997$. Ambos os métodos mostraram uma boa concordância e um desvio não significativo foi observado em algumas amostras específicas.

APRESENTAÇÃO DO KIT:

Cat. Nº	Reagente	Volume	Nº Teste
12032	BUF	4 x 200,0 mL	1000
	SUB	4 x 50,0 mL	
12402	BUF	1 x 80,0 mL	100
	SUB	1 x 20,0 mL	

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:

Telefax (31) 3067-6400 E-mail: invitroms@invitro.com.br

N.º DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

BIBLIOGRAFIA:

1. Synopsis der Leberkrankheiten: H. Wallnofer, E. Shmidt, u. F. W. Schmidt, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974
2. Thefeld, W. et al., Dtsch. med. Wschr. **99**, 343 (1974)
3. Clin. Chem. Acta **105**, 147-172 (1980)
4. Schumann, G. et al., Clin. Chem. Lab. Med. **40**, 734-738 (2002)
5. Schumann, G. et al., Clin. Chem. Acta. **327**, 69-79 (2003)
6. Fischbach, F., Zawta, B. Klin. Lab **38**, 555-561 (1992)
7. Guder, W., Die Qualität diagnostischer Proben, 7th edition (2012)

Produzido e Distribuído por

In Vitro Diagnóstica Ltda

Rua Cromita, 278, Distrito Industrial – Itabira/MG. CEP: 35903-053

Telefone: 31-3067-6400 – Fax: 31-3067-6401

e-mail: invitroms@invitro.com.br

Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF 4463

Reg. M.S. 10303460354

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO



O conteúdo é suficiente para <n> testes



Data limite de utilização



Limite de temperatura (conservar a)



Número do Catálogo



Tóxico



Consultar Instrução de Uso



Número do lote

REV. 01/12

InVitro