



GPT (ALT) UV

Liquid Stable

Finalidade

Método UV otimizado (IFCC) para a determinação de alanina aminotransferase (GPT/ALT) em soro ou plasma.

Significado clínico

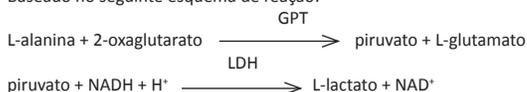
A alanina aminotransferase (ALT ou GPT) é uma enzima unilocular (citoplasmática), cuja maior atividade localiza-se no tecido hepático. A destruição ou mudança de permeabilidade das membranas celulares provoca a liberação de ALT na circulação sanguínea.

Os maiores aumentos de atividade ALT em soro, são produzidos em consequência de alterações hepáticas. Em caso de hepatites virais, o aumento de ALT antecede à aparição de icterícia, alcançando um valor máximo, imediatamente após a observação de tal sintoma. Se os valores permanecem elevados após 6 semanas deve-se pensar na possibilidade de uma hepatite ativa ou no começo de uma hepatite crônica. Devido a tais fatores as determinações seriadas da atividade enzimática nestes pacientes é de grande utilidade.

A determinação de ALT adquire importância para realizar o diagnóstico quando seus valores se comparam com os de outras enzimas de origem tissular similar, permitindo assim completar o perfil enzimático de órgãos como o fígado.

Fundamento do método

Baseado no seguinte esquema de reação:



Reagentes fornecidos

A. Reagente A: solução de Tampão Tris pH 7,5 contendo L-alanina.

B. Reagente B: solução contendo 2-oxaglutarato, nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzido (NADH) e lactato desidrogenase (LDH).

Concentrações finais

Tris 100 mmol/L; pH 7,5
L-alanina 500 mmol/L
NADH 0,18 mmol/L
LDH $\geq 1,5$ U/L
2-oxaglutarato 15 mmol/L

Instruções de uso

Reagentes Fornecidos: prontos para uso. Podem-se utilizar separados ou como Reagente único misturando 4 partes de Reagente A + 1 parte de Reagente B (ex. 4 mL Reagente A + 1 mL Reagente B).

Precauções

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

Estabilidade e instruções de armazenamento

Reagentes Fornecidos: são estáveis sob refrigeração (2-8°C) até a data de vencimento indicada na embalagem.

Uma vez abertos não devem permanecer fora do refrigerador durante períodos prolongados. Evitar contaminações.

Reagente único (pre-misturado): estável sob refrigeração (2-8°C) por 2 meses a contar da data de sua preparação.

Indícios de instabilidade o deterioração dos reagentes

Quando o espectrofotômetro foi zerado com água destilada, leituras de absorbância do Reagente único inferiores a 0,900 D.O. ou superiores a 1,800 D.O. (a 340 nm) são indício de deterioração do mesmo.

Amostra

Soro ou plasma

a) Coleta: deve-se obter da forma habitual.

b) Aditivos: caso de utilizar plasma como amostra, deve-se empregar heparina ou EDTA como anticoagulantes.

c) Estabilidade e instruções de armazenamento: a GPT em soro é estável até 3 dias sob refrigeração (2-8°C), sem necessidade de adicionar conservantes. Não congelar.

Interferências

As amostras de pacientes hemodialisados ou com hipovitaminose ou outras patologias associadas com deficiência de piridoxal fosfato produzem

valores falsamente menores.

Não são observadas interferências por bilirrubina até 25 mg/dL nem triglicerídeos até 1000 mg/dL. A hemoglobina interfere significativamente aumentando os resultados, partindo de hemólise moderada, pela presença de GPT nos eritrócitos.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

Material necessário (não fornecido)

- Espectrofotômetro.
- Micropipetas e pipetas capazes de medir os volumes indicados.
- Banho-maria à temperatura indicada no procedimento a seguir.
- Cronômetro.

Condições de reação

- Comprimento de onda : 340 nm
- Temperatura de reação: 25, 30 ou 37°C. Vide os "Valores de referencia" correspondentes a cada temperatura.
- Tempo de reação: 4 minutos
- Volume de amostra: 100 μ L

Os volumes de Amostra e de Reagente, podem-se mudar proporcionalmente sem que variem os fatores de cálculo.

Procedimento

A) 30 ou 37°C

I- Técnica com reagente único

Em uma cuba mantida a 30-37°C, colocar:

| | |
|--|-------------|
| Reagente único | 1,0 mL |
| Pré-incubar uns minutos. Após acrescentar: | |
| Amostra | 100 μ L |

Misturar imediatamente e disparar simultaneamente o cronômetro. Após 90 segundos, registrar a absorbância inicial (vide "Limitações do procedimento") e passados os minutos 1, 2 e 3 da primeira leitura. Determinar a diferença média da absorbância/min ($\Delta A/\text{min}$), subtraindo cada leitura da anterior e tirando a média dos valores. Utilizar esta média para os cálculos.

II- Técnica com reagentes separados

Em uma cuba mantida a 30-37°C, colocar:

| | |
|--|-------------|
| Reagente A | 0,80 mL |
| Amostra | 100 μ L |
| Pré-incubar uns minutos. Após acrescentar: | |
| Reagente B | 0,20 mL |

Misturar imediatamente e disparar simultaneamente o cronômetro. Após 90 segundos, registrar a absorbância inicial (vide "Limitações do procedimento") e passados os minutos 1, 2 e 3 da primeira leitura. Determinar a diferença média da absorbância/min ($\Delta A/\text{min}$), subtraindo cada leitura da anterior e tirando a média dos valores. Utilizar esta média para os cálculos.

B) 25°C

Utilizar 250 μ L de Amostra seguindo o procedimento indicado em A).

Cálculo dos resultados

GPT (U/L) = ($\Delta A/\text{min}$ x fator)

Em cada caso deve-se utilizar o fator de cálculo correspondente conforme com a temperatura de reação selecionada:

fator (30-37°C) = 1746

fator (25°C) = 794

Exemplo:

(Os dados apresentados a seguir são ilustrativos)

| | Amostra | Diferença | Promédio |
|----------------|---------|-----------|----------|
| Absorbância A1 | 1,486 | | |
| Absorbância A2 | 1,437 | 0,049 | |
| Absorbância A3 | 1,388 | 0,049 | |
| Absorbância A4 | 1,340 | 0,048 | 0,049 |

Utilizando Fator teórico (37°C):

GPT (U/L) = 0,049 x 1746 = 85,5 U/L

Se é utilizado Laborcal como calibrador:

Concentração de GPT no calibrador: 112 U/L (37°C)

| | Calibrador | Diferença | Promédio |
|----------------|------------|-----------|----------|
| Absorbância A1 | 1,572 | | |
| Absorbância A2 | 1,506 | 0,066 | |
| Absorbância A3 | 1,442 | 0,064 | |
| Absorbância A4 | 1,379 | 0,063 | 0,064 |

Determinação do fator de calibração:

$$\text{Fator} = \frac{[\text{GPT}]_{\text{calibrador}}}{\Delta A/\text{min}_{\text{calibrador}}} = \frac{112 \text{ U/L}}{0,064} = 1750$$

$$\text{GPT (U/L)} = \Delta A/\text{min}_{\text{Amostra}} \times \text{Fator} = 0,049 \times 1750 = 85,7 \text{ U/L}$$

Valores de referência

| Temperatura | 25°C* | 30°C* | 37°C |
|-------------|------------|------------|------------|
| Homens | até 22 U/L | até 29 U/L | até 41 U/L |
| Mulheres | até 17 U/L | até 22 U/L | até 31 U/L |

* Calculados

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

Conversão de unidades ao sistema SI

$$\text{GPT (U/L)} \times 0,017 = \text{GPT (ukat/L)}$$

Método de controle de qualidade

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (Laborcontrol 1 e Laborcontrol 2 da Laborlab) com atividades conhecidas de alanina aminotransferase, com cada determinação.

Limitações do procedimento

Vide "Interferências".

Absorbância inicial baixa: uma vez acrescentado o soro, a primeira leitura (tempo 0) é inferior a 0,900 D.O., encontrando-se o Reactivo B em boas condições, indica uma amostra com muita atividade de GPT (que consome o NADH muito antes de esta leitura) ou com uma concentração de cetoácidos endógenos particularmente elevada. Neste caso, repetir a determinação com amostra diluída com solução fisiológica e multiplicando o resultado conforme à diluição já realizada.

Desempenho

a) Reprodutibilidade: processando simultaneamente duplicatas da mesma amostra, obteve-se o seguinte:

| Nível | D.P. | C.V. |
|------------|------------|--------|
| 43,35 U/L | ± 1,31 U/L | 3,02 % |
| 119,70 U/L | ± 2,18 U/L | 1,82 % |

b) Sensibilidade: a mudança mínima de atividade detectável de GPT diferente de zero é 2 U/L.

c) Faixa dinâmica: o intervalo útil de leitura prolonga-se até 0,345 ΔA/min (a 340 nm). Se a ΔA/min é superior a 0,345, deve-se repetir a determinação com amostra diluída (1:5 ou 1:10) com solução fisiológica, corrigindo os resultados conforme ao fator de diluição empregado.

Parâmetros para analisadores automáticos

Para a programação consultar o manual de uso do analisador a ser utilizado.

Apresentação

2 x 48 mL Reagente A

2 x 12 mL Reagente B

(Cód. 1770150)

Referências

- IFCC - Clin. Chim. Acta 70/2:F19 (1976).
- SSCC - Scand. J. Clin. Lab. Invest. 33:291 (1974).
- DGKC - Z. Klin. Chem. 10:281 (1972).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- Bergmeyer H.V., Horder, M., Rej R. - J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 24:497, 1986.
- Dufour, D.R.; Lott, J.A.; Nolte, F.S.; Gretch, D.R.; Koff, R.S. and Seeff, L.B. - Clin. Chem. 46/12:2027, 2000.
- "Tietz textbook of Clinical Chemistry" - Burtis and Ashwood Editors, 3rd Ed. - Saunders Co., 1999.

Termo de garantia

Este Kit como um todo tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Departamento Técnico da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda. que não houve falhas técnicas na execução e manuseio deste kit, assim como em sua conservação.

SÍMBOLOS



Este produto preenche os requisitos da Diretiva Européia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado na Comunidade Européia



Uso médico-diagnóstico "in vitro"



Conteúdo suficiente para <n> testes



Data de validade



Limite de temperatura (conservar a)



Não congelar



Risco biológico



Volume após da reconstituição



Conteúdo



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caústico



Irritante



Consultar as instruções de uso



Calibrador



Controle



Controle Positivo



Controle Negativo



Número de catálogo



Produtos para Laboratórios Ltda.
Estrada do Capão Bonito, 489
Guarulhos - SP - Brasil - CEP: 07263-010
CNPJ: 72.807.043/0001-94
Atendimento ao cliente:
+55 (11) 2480 0529/+55 (11) 2499 1277
sac@laborlab.com.br
www.laborlab.com.br