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:

$$\text{2-oxoglutarato + L-alanina} \xrightleftharpoons{\text{GPT}} \text{L-glutamato + Piruvato}$$

$$\text{Piruvato + NADH + H}^+ \xrightleftharpoons{\text{LDH}} \text{L-lactato + NDA}^+$$

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 8ºC.

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-oxoglutarato 75 mmol/L; NADH ~ 0,9 mmol/; 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 - 8ºC e protegidos da luz. Evitar contaminação dos reagentes. O reagente de uso é estável por 4 semanas a 2 a 8ºC ou 5 dias a 15 a 25ºC.

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 7 dias e em uma temperatura de até 37ºC.

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;
- Manter no frasco original;
- Usar equipamentos de proteção necessários;
- Em caso de contato desta solução com a pele ou mucosa, lavar com bastante água e procurar um médico;
- Em caso de contato com os olhos, lavar com bastante água por vários minutos. Remover lentes de contatos, se presentes e for fácil a retirada. Continuar a lavar.
- 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.
- Os riscos residuais do kit, de acordo com critérios pré-determinados, são aceitáveis em comparação aos benefícios proporcionados pelo uso. A análise de risco foi realizada de acordo com a ISO 14971, relacionada à data final e levando em consideração a atual informação de registro.

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 oxalatados 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 8ºC) 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. Termostatizar o reagente de uso e as cubetas a 37°C. A temperatura deve permanecer constante (± 0,5ºC) durante a execução do teste.

B. Leitura em espectrofotômetro:
Comprimento de onda: Hg 365 nm, 334 nm, e 340 nm.
Cubeta: 1 cm
Temperatura: 37ºC
Medida: Contra o ar (decréscimo de absorbância)

C. PROCEDIMENTO:

Pipetar nas cubetas	37ºC
Amostra	100 µL
Reagente de Uso	1,0 mL
Homogeneizar. Ler absorbância (A_0) após 1 minuto. Ao mesmo tempo acionar o cronômetro. Ler a absorbância novamente após exatamente 2 minutos (A_2).	

*Método semimicro; para métodos macro, dobre os volumes.

D. CÁLCULO:
- $U/L = (A_2-A_0)/2 * Fator$

Temperatura	37ºC
334 nm	1780
340 nm	1745
365 nm	3235

TÉCNICA ALTERNATIVA:

Pipetar nas cubetas	37ºC
Amostra	100 µL
BUF	1,0 mL
Homogeneizar, incubar por 5 minutos a 37ºC.	
SUB	250 µL
Homogeneizar. Ler absorbância (A_0) após 1 minuto. Ao mesmo tempo acionar o cronômetro. Ler a absorbância novamente após exatamente 2 minutos (A_2).	

*Método semimicro; para métodos macro, dobre os volumes.

CÁLCULO:
- $U/L = (A_2-A_0)/2 * Fator$

Temperatura	37ºC
334 nm	2184
340 nm	2143
365 nm	3971

Se os resultados do controle estiverem fora das faixas permitidas, o fator de cálculo deve ser verificado com um material calibrador adequado e ajustado usando fatores de correção.

Fator de conversão de unidades internacionais para o sistema internacional-SI:
1 U/L = 0,0167 µKat/L
1 µKat/L = 60 U/L

AUTOMAÇÃO:
Adaptação especial para analisadores pode ser fornecida quando solicitada.

LINEARIDADE DA REAÇÃO:
O intervalo de medição é de até 500 U/L ou 8,33 µKat/L.

As amostras com concentrações acima do intervalo de medição devem ser diluídas (100 µl de amostra + 900 µl de solução salina fisiológica) e repetidas. Multiplique o resultado por 10.

Amostras com concentrações muito altas podem produzir resultados falsamente baixos. Neste caso, dilua conforme descrito acima.

SUBSTÂNCIAS INTERFERENTES
Substâncias interferentes foram adicionadas a uma amostra conhecida. Nenhuma interferência foi detectada até as seguintes concentrações:

Ácido Ascórbico	até 20 mg/dL
Bilirrubina	até 40 mg/dL
Hemoglobina	até 500 mg/dL
Intralípides	até 300 mg/dL
Triglicérides	até 750 mg/dL
Piruvato	até 1 mmol/L

VALORES DE REFERÊNCIA:

Temperatura	37ºC	37°C IFCC*
Homem	até 42 U/L	até 45 U/L
Mulher	até 32 U/L	até 34 U/L

*Ativação com piridoxalfosfato.

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:
2,79 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
12402	BUF SUB	1 x 80,0 mL 1 x 20,0 mL	100
12032	BUF SUB	4 x 200,0 mL 4 x 50,0 mL	1000

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:
Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:
Telefone: **08005919186** E-mail: invitroms@invitro.com.br
N.º DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

BIBLIOGRAFIA:

1. Clin. Chim. Acta **105**, 147-172 (1980)
2. Wallnöfer H. *et al.*, Synopsis der Leberkrankheiten, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1974
3. Thefeld, W. *et al.*, Dtsch. med. Wschr. **99**, 343 (1974)
4. Schumann, G. *et al.*, Clin. Chem. Lab. Med. **40**, 725-733 (2002)
5. Schumann, G., Klauke, R., Clin. Chim. 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 e-mail: invitroms@invitro.com.br
Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF 4463
Reg. M.S. 10303460354 Classe de Risco: II

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

Produto Diagnóstico In Vitro

Data de Fabricação