

# GPT (ALAT) InViVET

## MÉTODO:

Cinético UV (IFCC)

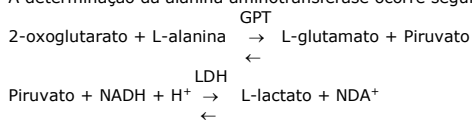
## FINALIDADE:

Reagentes para a determinação da atividade da alanina aminotransferase (GPT) em amostras de soro e plasma. Somente para uso diagnóstico *in vitro*. Uso exclusivo veterinário.

## 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:

A enzima GPT (ALAT - Transaminase Glutâmico Pirúvica) A Alanina Aminotransferase - ALT ou Transaminase Glutâmico Pirúvica - TGP é uma enzima intracelular presente em grande quantidade no fígado e rim, e em menor quantidade na musculatura esquelética e coração. Como teste de função hepática, a GPT é mais sensível para detecção de danos do hepatócito do que para obstrução biliar, sendo considerada um excelente marcador hepatocelular para pequenos animais. Apresenta níveis mais elevados que os da GOT/ASAT nos casos de hepatite e esteatose. São encontrados níveis elevados nas hepatites infecciosas e tóxica, hemocromatose, doença pancreática, cirrose, icterícia obstrutiva e carcinoma metastático. Em pacientes com infarto do miocárdio a ALT geralmente está normal ou ligeiramente elevada. Entretanto, insuficiência cardíaca ou choque com necrose hepática concomitante podem elevar seus níveis.

## 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-oxoglutarato 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;
- 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 transmitam 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 oxalotados 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: 37°C  
Medida: Contra o ar (decréscimo de absorvância)

## C. PROCEDIMENTO:

Pipetar nas cubetas	37°C
Amostra	100 $\mu\text{L}$
Reagente de Uso	1,0 mL
Homogeneizar. Ler a absorvância inicial após 1 minuto. Ao mesmo tempo acionar o cronômetro. Ler a absorvância novamente após exatamente 2 minutos.	

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

## D. CÁLCULO:

- Calcular a média das diferenças das absorvâncias 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	37°C
$\Delta A/\text{min}$ (Hg 334 nm) x	1780
$\Delta A/\text{min}$ (340 nm) x	1745
$\Delta A/\text{min}$ (Hg 365 nm) x	3235

## Exemplo:

1) Temperatura: 37°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:

$A_0 = 1,300$

$A_1 = 1,180$

$A_2 = 1,050$

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

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

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

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 (U/L) para o sistema internacional -SI (Kat/L):

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

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

## TÉCNICA ALTERNATIVA:

Pipetar nas cubetas	37°C
Amostra	100 $\mu\text{L}$
BUF	1,0 mL
Homogeneizar, incubar por 5 minutos à temperatura desejada.	
SUB	250 $\mu\text{L}$
Homogeneizar. Ler absorvância inicial após 1 minuto. Ao mesmo tempo acionar o cronômetro. Ler a absorvância novamente após exatamente 2 minutos.	

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

**CÁLCULO:**

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

Temperatura	37°C
$\Delta A/\text{min}$ (Hg 334 nm) x	2184
$\Delta A/\text{min}$ (340 nm) x	2143
$\Delta A/\text{min}$ (Hg 365 nm) x	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.

**LINEARIDADE DA REAÇÃO:**

O intervalo de medição é de até 500 U/L ou 8,33  $\mu\text{Kat/L}$ .

As amostras com concentrações acima do intervalo de medição devem ser diluídas (100  $\mu\text{l}$  de amostra + 900  $\mu\text{l}$  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.

**VALORES DE REFERÊNCIA:**

Temperatura	37°C
Felinos adultos	34,9 – 74,3 U/L
Caninos	15,6 – 45,2 U/L
Equinos	3 – 23 U/L
Bovinos	11 – 40 U/L
Ovinos	6,0 – 19,0 U/L
Caprinos	24 – 83 U/L

**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 1 InviVET e Controle 2 InviVET.

**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 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 (ALÁT) VET 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
415	BUF	1 x 40,0 mL	50
	SUB	1 x 10,0 mL	

**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)
8. Eclinpath – Cornell University College of Veterinary Medicine
9. Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária, STOCKHAM, S.; SCOTT, M., Guanabara Koogan, 2ª Edição, 2020.
10. Manual de Patologia Clínica Veterinária, LOPES, S.; BIONDO, A., SANTOS, A., UFSM, 3ª Edição, 2007.
11. Large Animal Interne Medicine, SMITH, B., Mosby Elsevier, 4ª Edition.

**DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS**

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto.  
Telefone: 31-3654-6366 e-mail: invitroms@invitro.com.br

**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

**SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO**

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