GPT (ALAT) - SNIBE

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* profissional.

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:

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

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

SIGNIFICADO CLÍNICO
Aminotransferases são indicadores básicos de danos no fígado e músculos. Aminotransferases são medidas para diagnóstico e diagnóstico diferencial de doença hepatobiliar (GPT/ALAT), infarto do miocárdio (GOT/ASAT), dano muscular esquelético (GOT/ASAT), hepatite viral (GPT/ALAT) e como parte de exames de triagem médica. GPT (ALAT) tem maior sensibilidade diagnóstica para doença hepatobiliar do que GOT (ASAT). Atividades muito altas são medidas principalmente com hepatite viral aguda, distúrbios agudos de perfusão hepática e necrose hepática aguda.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO
Conservar entre 2 a 8ºC.

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.

AMOSTRAS BIOLÓGICAS
Tipo de amostra: SORO, PLASMA (Heparina, EDTA). Evitar amostras com hemólise.

Estabilidade das amostras: Em soro e plasma é de 4 dias quando armazenado a 20 - 25ºC, 7 dias quando armazenado a 4 - 8ºC e 3 meses quando armazenado a -20ºC. 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
Equipamento de bioquímica automático, pipeta, ponteira e lixo para descarte. Os materiais não fornecidos podem ser adquiridos no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

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

A. 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)

B. Procedimento de teste:

PROCEDIMENTO 1: Sample Start

Pipetar nas cubetas	37ºC
Amostra	100 µL
Reagente de Uso	1000 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	1780
340 nm	1745
365 nm	3235

PROCEDIMENTO 2: Reagent Start

Pipetar nas cubetas	37ºC
Amostra	100 µL
BUF	1000 µL
Homogeneizar, incubar por 5 minutos a 37°C.	
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

CALIBRAÇÃO
Para a calibração recomenda-se o uso do Multicalibrador de Bioquímica - Snibe de acordo com os procedimentos descritos em suas instruções de uso e tabelas com valores. Inserir no analisador o valor definido para este parâmetro. Recomendamos a verificação da validade da calibração antes de cada corrida. A recalibração deve ser realizada quinzenalmente ou:
- Sempre que os controles se encontrarem fora da faixa;
- Depois da troca de lote de reagente;
- De acordo com o requerido no controle de qualidade interno.

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 a utilização de nossos soros controle da linha Multicontrole de Bioquímica – Snibe.

AUTOMAÇÃO
Adaptação especial para analisadores automáticos de bioquímica está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada para o Departamento de Serviços Associados.

RASTREABILIDADE
O GPT (ALAT) é rastreável à preparação referência IRMM 454.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Exatidão
O kit GPT (ALAT) 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.

Precisão
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

Sensibilidade
A partir da média do desvio padrão da imprecisão dia-a-dia (0.93 U/L) em baixas concentrações, a sensibilidade pode ser calculada multiplicando-se o desvio padrão por 3. Sensibilidade: 3 x 0.93 = 2.79 [U/L]

Linearidade
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.

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

Recuperação em soro controle
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 (ALAT) de diferentes lotes. A média dos valores foi calculada e comparada com a média fornecida pelos respectivos soros controle.

APRESENTAÇÃO DO KIT

Cat. Nº	Reagente	Volume
817-2	BUF SUB	2 x 60 mL 2 x 15 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)

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS
Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:
Telefone: +55(31) 3067-6400 e-mail: invitroms@invitro.com.br

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

Fabricado e Regularizado por: In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053. CNPJ: 42.837.716/0001-98
Telefone: +55(31) 3067-6400 e-mail: invitroms@invitro.com.br
Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF 4463

ANVISA: 10303460612 Classe de Risco: II

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO


Data limite de utilização


Limite de temperatura (conservar a)



Número do Catálogo


Consultar Instrução de Uso



Número do lote



Produto Diagnóstico In Vitro


Data de Fabricação