



GPT(ALT) UNIIII

AA

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.

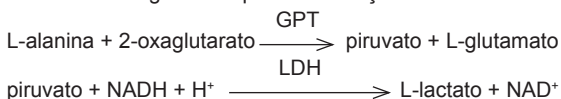
Os maiores aumentos de atividade ALT em soro, são produzidos em consequência de alterações hepáticas.

Em caso de hepatites virais, o aumento de ALT antecede à aparição de icterícia, alcançando um valor máximo, 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: frascos contendo 2-oxaglutarato, nicotinamida-adeninadineucleótido reduzido (NADH) e lactato desidrogenase (LDH).

B. Reagente B: solução de Tampão TRIS pH 7,5 (a 30°C) contendo L-alanina.

Concentrações finais (segundo IFCC e SSCC)

TRIS	100 mmol/l; pH 7,5 (a 30°C)
L-alanina	500 mmol/l
NADH	0,18 mmol/l
LDH	≥ 1.200 U/l
2-oxaglutarato.....	15 mmol/l

INSTRUÇÕES DE USO

Reagente B: pronto para uso.

Reagente A; preparação: adicionar 20 ml de Reagente B a um frasco de Reagente A. Tampar, agitar até a dissolução completa e datar.

PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

O Reagente B contém azida.

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 (2-10°C) até a data do vencimento indicado na embalagem.

Reagente A reconstituído: estável por 30 dias sob refrigeração (2-10°C) ou por 3 dias sob temperatura ambiente a contar do momento de sua reconstituição.

INDÍCIOS DE INSTABILIDADE OU DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES

Quando o espectrofotômetro foi zerado com água destilada, leituras de absorvância do Reagente A reconstituído inferiores a 0,800 D.O., ou superiores a 1,800 D.O. (a 340 nm) indicam deterioração do mesmo.

AMOSTRA

Soro ou plasma

- a) Coleta:** deve-se obter a amostra da forma habitual.
b) Aditivos: não são necessários. Se for utilizado plasma, deve-se empregar heparina como anticoagulante.
c) Substâncias interferentes conhecidas:

- As amostras com hemólise visível ou intensa produzem valores falsamente aumentados, portanto não devem ser utilizados.

- As amostras de pacientes hemodialisados ou com hipovitaminose ou outras patologias associadas com deficiência de piridoxal fosfato produzem valores falsamente diminuídos. Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

d) Estabilidade e instruções de armazenamento: a GPT em soro é estável até 3 dias sob refrigeração (2-10°C), sem acréscimo de conservante. Não congelar.

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

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

CONDIÇÕES DE REAÇÃO (Diminuição da absorvância)

- Comprimento de onda: 340 nm (Hg 334 ou 366).
- Temperatura de reação: 25, 30 ou 37°C. Vide os VALORES DE REFERÊNCIA correspondentes a cada temperatura.
- Tempo de reação: 4 minutos.

Volumes de Amostra e de Reagente A reconstituído: podem ser reduzidos proporcionalmente sem que por isso, variem os fatores de cálculo correspondentes.

PROCEDIMENTO

A) 30 ou 37°C

I- MACROTÉCNICA

Em uma cubeta mantida a 30-37°C colocar:

Reagente A reconstituído	2 ml
Amostra	200 ul

Misturar imediatamente e disparar simultaneamente o cronômetro. Registrar a absorbância inicial após 1 minuto (Vide LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO) e passados 1, 2 e 3 minutos 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- MICROTÉCNICA

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

Reagente A reconstituído	1 ml
Amostra	100 ul

Misturar imediatamente. Continuar de maneira similar ao descrito no procedimento anterior. (A-I)

B) 25°C

MACROTÉCNICA

Utilizar 500 ul de Amostra. Após de acrescentar a Amostra, misturar imediatamente e disparar simultaneamente o cronômetro. Após de 3 minutos, registrar a absorbância inicial (vide LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO). Continuar do mesmo modo que o descrito no procedimento A-I.

CÁLCULO DOS RESULTADOS

$GPT (U/l) = \Delta A/\text{min} \times \text{fator}$

Em cada caso deve ser empregado o fator de cálculo correspondente de acordo com a temperatura de reação selecionada (30-37°C ou 25°C), como indicado na seguinte tabela de fatores:

Temperat.	30-37°C	25°C
Long. onda		
340 nm	1.740	791
334 nm	1.780	809
366 nm	3.207	1.453

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Standatrol S-E 2 níveis**) com atividades conhecidas de alanina aminotransferase, com cada determinação.

VALORES DE REFERÊNCIA

	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

$GPT (U/l) \times 0,017 = GPT (ukat/l)$

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA. Absorbância inicial baixa: uma vez acrescentado o soro a primeira leitura (tempo 0), se esta for inferior a 0,800 D.O., estando o Reagente A (Substrato) em condições, isto pode indicar uma Amostra com uma atividade muito alta de GPT (que consome o NADH antes mesmo desta leitura) ou com uma concentração de cetóácidos endógenos particularmente elevada. Neste caso, repetir a determinação com amostra diluída com solução fisiológica e multiplicar o resultado pela diluição efetuada.

A umidade é causa de deterioração do Reagente A.

DESEMPENHO

a) Reprodutibilidade: processando simultaneamente duplicatas de uma mesma amostra, obtém-se os seguintes dados:

Nível	D.P.	C.V.
19,8 U/l	± 1,11 U/l	5,63 %
118 U/l	± 2,02 U/l	1,71 %

b) Limite de detecção: depende do fotômetro empregado. De acordo com a sensibilidade requerida, em espectrofotômetro com cubetas de faces paralelas de 1 cm de espessura, reprodutibilidade ± 2 nm, luz espúria $\leq 0,5$ %, e banda de passagem ≤ 8 nm, para um $\Delta A/\text{min}$ de 0,001 a mudança mínima de atividade detectável será de 1,8 U/l (a 340 nm e 30 ou 37°C).

c) Faixa dinâmica: a faixa útil de leitura estende-se até 0,200 $\Delta A/\text{min}$ (a 340 nm). Se a $\Delta A/\text{min}$ é superior a 0,200 (a 340-334 nm) ou 0,100 (a 366 nm) deve-se repetir a determinação com amostra diluída (1:5 ou 1:10) com solução fisiológica, corrigindo conseqüentemente os resultados.

PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Para a programação consultar o Manual de Uso do analisador a ser utilizado.

APRESENTAÇÃO

- 10 x 20 ml (200 ml Reagente B) (Cód. 1761302).

REFERÊNCIA

- I.F.C.C. - Clin Chim Acta 105:147F (1980).
- S.S.C.C. - Scand. J. Clin. Lab. Invest. 33: 291 (1974).
- D.G.K.C. - Z. Klin. Chem. 10: 281 (1972).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

Símbolos

Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab.



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



Elaborado por:



Representante autorizado na Comunidade Européia



Nocivo



Uso médico-diagnóstico "in vitro"



Corrosivo / Caústico



Conteúdo suficiente para <n> testes



Irritante



Data de validade



Consultar as instruções de uso



Limite de temperatura (conservar a)



Não congelar



Calibrador



Risco biológico



Controle



Volume após da reconstituição



Controle Positivo



Conteúdo



Controle Negativo



Número de lote



Número de catálogo



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina