

## Finalidade

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

## Significado Clínico

Em cães e gatos, a GPT/ALT apresenta grande especificidade hepática, devido a sua presença em maior concentração nessas células. Isso faz com que a determinação da sua atividade sérica seja importante para detecção de lesão ou morte de hepatócitos nessas espécies. Entretanto, o aumento da atividade sérica de GPT/ALT também pode estar relacionado à doença ou lesão muscular grave devido à presença, ainda que em proporções menores, dessa enzima nas células musculares (a massa muscular é maior do que a hepática). Por isso, quando há aumento da atividade de GPT/ALT, é importante mensurar a atividade sérica de uma enzima mais específica para lesão muscular (p. ex., creatinquinase) para determinar se a lesão muscular é a possível causa dessa elevação.

Equinos apresentam baixa concentração de GPT/ALT nos seus hepatócitos, por isso, a atividade sérica desta enzima não tem importância na detecção de doença hepática nesses animais.

Doenças hepáticas inflamatórias crônicas podem resultar em “crises” periódicas de aumento da atividade de GPT/ALT, portanto, mensurações repetidas da atividade sérica da enzima podem esclarecer a natureza da doença primária. Contudo, é importante saber que, em algumas situações, pode haver doença hepática significativa, com atividade sérica de GPT/ALT normal ou apenas ligeiramente aumentada.

Também é possível notar aumento da atividade sérica de GPT/ALT em cães com hiperadrenocorticismo ou naqueles que receberam corticosteroides. Em geral, esse aumento é discreto (duas a cinco vezes); entretanto, o aumento da atividade de GPT/ALT pode variar amplamente entre os cães submetidos à terapia com corticosteroide, dependendo da dose do medicamento e da duração do tratamento.

## 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-oxoglutarato, nicotinamina 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.....	≥ 1,5 U/L
2-oxoglutarato.....	15 mmol/L

## Instruções de Uso

Reagentes Fornecidos: prontos para uso. Podem ser utilizados separadamente 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* veterinário.

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

Todos os reagentes e amostras devem ser descartados conforme a legislação 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 (pré-misturado): estável sob refrigeração (2-8°C) por 2 meses a contar da data de preparação.

## Indícios de instabilidade ou deterioração dos reagentes

Quando o espectrofotômetro for zerado com água destilada, leituras de absorvância do reagente único inferiores a 0,900 D.O. ou superiores a 1,800 D.O. (a 340 nm) são indícios de deterioração.

## Amostra

Soro ou plasma

- Coleta: deve ser realizada de forma habitual.
- Aditivos: caso seja utilizado o plasma como amostra, heparina ou EDTA devem ser utilizados como anticoagulantes.
- Estabilidade e instruções de armazenamento: a GPT em soro é estável por 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.

Bilirrubina até 25 mg/dL e triglicérides até 1000 mg/dL não produzem interferências significativas. A hemoglobina interfere significativamente aumentando os resultados, partindo de hemólise moderada, pela presença de GPT nos eritrócitos.

## Material necessário (não fornecido)

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

## Condições da reação

- Comprimento de onda: 340 nm
- Temperatura de reação: 37°C
- Tempo de Reação: 4 minutos.
- Volume de amostra: 100µL

Os volumes de Amostras e Reagente podem mudar proporcionalmente sem que variem os fatores de cálculo.

## Procedimento

### I - Técnica com reagente único

Em uma cubeta mantida a 37°C, colocar:

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

Misturar imediatamente e disparar simultaneamente o cronômetro. Após 90 segundos, registrar a absorvância inicial (vide “Limitações do procedimento”) e passados os minutos 1, 2 e 3 da primeira leitura. Determinar a diferença média da absorvância/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 37°C, colocar:

Reagente A	0,8 mL
Amostra	100 µL
Pré-incubar uns minutos. Após, acrescentar:	
Reagente B	0,20 mL

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

## Cálculo dos Resultados

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

Fator = 1746

Exemplo:

(Os dados apresentados a seguir são ilustrativos)

	Amostra	Diferença	Média
Absorvância A1	1,486		
Absorvância A2	1,437	0,049	

Absorbância A3	1,388	0,049	
Absorbância A4	1,340	0,048	0,049

Utilizando Fator teórico:

$$\text{GPT/ALT (U/L)} = 0,049 \times 1746 = 85,5 \text{ U/L}$$

Caso seja utilizado o calibrador Laborcal Vet:

Concentração do GPT/ALT no calibrador: 112 U/L

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

Obtenção do fator de calibração:

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

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

#### Conversão de unidades

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

#### Método de Controle de Qualidade

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

#### Valores de Referência

##### Espécie (U/L)

Canina	21 - 102
Felina	6 - 83
Equina	3 - 23

Os valores de referência devem ser usados apenas como orientação. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça, na população de animais atendida, seus próprios valores de referência.

#### Limitações do procedimento

Vide "Interferências".

Absorbância inicial baixa: uma vez acrescentado o soro, se a primeira leitura (tempo 0) for inferior a 0,900 D.O., encontrando-se o Reativo B em boas condições, indica uma amostra com muita atividade de GPT (que consome o NADH muito antes desta 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 a diluição já realizada.

#### Desempenho

- a) Reprodutibilidade: processando 20 determinações simultaneamente de uma amostra canina e outra equina com valores dentro do intervalo de referência, obteve-se o seguinte:

Amostra Canina:

Concentração	D.P.	C.V.
16,95	0,68	4,05
207,60	2,39	1,15

Amostra Equina:

Concentração	D.P.	C.V.
16,50	0,94	5,73
104,60	1,66	1,59

- b) Sensibilidade: a mudança mínima de atividade detectável de GPT/ALT diferente de zero é 2 U/L.
- c) Faixa dinâmica: o intervalo útil de leitura prolonga-se até 0,345  $\Delta A/\text{min}$  (a 340 nm), aproximadamente 600 U/L. Caso a  $\Delta A/\text{min}$  for superior a 0,345, a determinação deve ser repetida com amostra diluída (1:5 ou 1:10) com solução fisiológica, corrigindo os resultados conforme o 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. 1774154)

#### 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).
- 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.
- Thrall, M. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária 2 ed. Guanabara koogan: Rio de Janeiro, 2015.
- González, F. H. D.; SILVA, S. C. Introdução a bioquímica clínica veterinária. Porto Alegre: UFRGS, 2003.

#### 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



Laborlab 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](mailto:sac@laborlab.com.br)

[www.laborlab.com.br](http://www.laborlab.com.br)

Revisão 00

Julho, 2020