

Reactivo ALT (GPT)

Líquido de dos partes

RESUMEN DEL PRODUCTO

Estabilidad	:	Hasta fecha caducidad a 2-8°C
Intervalo Lineal	:	Hasta 1500 U/L (25,1 µkat/L)
Tipo de muestra	:	Suero
Método	:	Cinético UV
Preparación del reactivo	:	Suministrado listo para su uso.

IVD

USO PREVISTO

Este reactivo está pensado para la determinación cuantitativa in vitro de la ALT (L-alanina:2-oxoglutarato aminotransferasa EC2.6.1.2) en el suero humano.

RELEVANCIA CLÍNICA

La ALT está presente en elevadas concentraciones en el hígado y en menor grado en los riñones, en el corazón y en los músculos esqueléticos, en el páncreas, en el bazo y en los pulmones. No obstante, en general los niveles elevados de la ALT son el resultado de una enfermedad hepática asociada con algún grado de necrosis hepática tal como la cirrosis, el carcinoma, la hepatitis viral o tóxica y la ictericia obstructiva. De forma característica, la ALT es generalmente superior a la AST en la hepatitis viral o tóxica, mientras que para la mayor parte de los pacientes con enfermedad hepática crónica, generalmente los niveles de ALT son inferiores a los niveles de AST. De igual forma, se han encontrado elevados niveles de ALT en politraumatismos y en enfermedades musculares, en el fallo circulatorio con shock, en la hipoxia, en el infarto de miocardio y en la enfermedad hemolítica.¹

METODOLOGÍA

Wroblewski y LaDue² describieron por primera vez un método para determinar la ALT utilizando la LDH y NADH. Henry³ y Bergmeyer⁴ modificaron posteriormente este método para optimizar las condiciones del sustrato y eliminar las reacciones laterales. En la actualidad este método forma la base de muchos procedimientos nacionales e internacionales recomendados.

Las series de reacciones implicadas en el sistema de ensayo son las siguientes:

1. L-Alanina + 2-Oxoglutarato \xrightarrow{ALT} Piruvato + L-Glutamato
2. Piruvato + NADH \xrightarrow{LDH} L-Lactato + NAD
3. Piruvato de la muestra + NADH \xrightarrow{LDH} L-Lactato + NAD

1. Se transfiere el grupo amino enzimáticamente por medio de la ALT presente en la muestra desde la alanina hasta el átomo de carbono del 2-oxoglutarato produciendo piruvato y L-glutamato.
2. El piruvato se reduce a lactato por medio de la LDH presente en el reactivo con la oxidación simultánea de NADH a NAD. La reacción se sigue midiendo la velocidad de disminución de la absorbancia a 340 nm debida a la oxidación de NADH.
3. El piruvato endógeno de la muestra se reduce rápida y completamente por medio de la lactato deshidrogenasa (LDH) durante el período de incubación inicial de tal forma que no interfiera con el ensayo.

COMPOSICIÓN DEL REACTIVO

Ingredientes activos

Reactivo 1:

NADH	0,42 mmol/L
LDH (microbiana)	> 2000 U/L
2-Oxoglutarato	18,8 mmol/L
Tampón Tris	33 mmol/L

Reactivo 2:

L-Alanina	1300 mmol/L
Tampón Tris	443,5 mmol/L

pH 7,7 ± 0,1 at 20°C.

AVISO: No ingerir. Evite el contacto con la piel y con los ojos. En caso de contacto, lave abundantemente las áreas afectadas con agua. El reactivo contiene Azida de Sodio que puede reaccionar con las tuberías de cobre o de plomo. Añada una gran cantidad de agua antes de verterlo. Para información adicional consulte la Hoja de Datos de Seguridad del reactivo líquido de ALT(GPT) de dos partes.

SÍMBOLOS EN EL ETIQUETADO DEL PRODUCTO

EC REP	Representante autorizado	Limitación de temperatura	
IVD	Para uso en diagnósticos in vitro	Usar hasta/Fecha de caducidad	
LOT	Código de lote/Número de lote	PRECAUCIÓN. Consulte las instrucciones de uso.	
REF	Número de catálogo	Fabricado por	
i	Consulte las instrucciones de uso		
REAG 1	Reactivo 1 (R1)	REAG 2	Reactivo 2 (R2)

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Los reactivos se suministran listos para su uso.

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

Antes del uso:

Cuando se almacenan entre 2 y 8°C, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en las etiquetas del frasco y de la caja del kit.

Una vez que se ha abierto el reactivo:

Cuando se almacenan cerrados entre 2 y 8°C, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en las etiquetas del frasco y de la caja del kit.

Indicaciones del deterioro del reactivo:

- Turbidez,
- Absorbancia del reactivo 1 <2,3 AU a 340 nm (paso de luz de 1 cm); y/o
- Imposibilidad de recuperar los valores de control dentro del intervalo asignado.

TOMA Y MANEJO DE LAS MUESTRAS

Suero: Use suero no hemolizado.

Almacenamiento: Las muestras de suero se pueden almacenar durante al menos 3 días a temperatura ambiente (18-25°C) y durante al menos 1 semana a 4°C.⁵

EQUIPOS ADICIONALES NECESARIOS PERO NO PROPORCIONADOS

- Un analizador químico clínico capaz de mantener una temperatura constante (37°C) y de medir la absorbancia a 340 nm.
- Consumibles específicos del analizador, por ejemplo: copas para muestras.
- Material de control de ensayos normales y anormales.

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Se recomiendan los siguientes parámetros del sistema. El Grupo de Soporte Técnico suministra aplicaciones para los instrumentos individuales tras solicitud.

PARÁMETROS DEL SISTEMA

Temperatura	30/37°C
Longitud de onda primaria	340 nm (334-365 nm)
Longitud de onda secundaria	380 nm
Tipo de ensayo	Velocidad/cinética
Dirección	Disminución
Muestra: Relación de reactivo	1 : 16 (R1) : 4 (R2)
p.ej. Vol de muestra	15 µL
Vol de reactivo 1	240 µL
Vol de reactivo 2	60 µL
Tiempo de retardo (muestra + R1)	≤5 minuts
Tiempo de retraso (muestra + R1 + R2)	>30 segundos
Tiempo de lectura	1 - 2 minutos
Límites del blanco de reactivo (R1 + R2)	Bajo 1,8 AU
(340 nm, paso de luz de 1 cm)	Alto 2,4 AU
Linealidad	Hasta 1500 U/L
(consulte la sección de Linealidad)	(25,1 µkat/L)
Sensibilidad Analítica	0,30 ΔmA/min por U/L
(340 nm, paso de luz de 1 cm)	(18,0 ΔmA/min por µkat/L)

CÁLCULOS

En general, el instrumento calcula los resultados de forma automática, como sigue:

Actividad en U/L = ΔAbs/min x Factor

$$\text{Factor} = \frac{TV \times 1000}{6,3 \times SV \times P}$$

En la cual:

- TV = Volumen total de reacción en mL
- SV = Volumen de la muestra en mL
- 6,3 = coeficiente de absorción milimolar del NADH a 340 nm (Véase la nota 4)
- P = Longitud del paso de la cubeta en cm.

Ejemplo:

Δ Abs/min = 0,08
Factor = 3333 (Véase la nota 5)
ALT = 0,08 x 3333 = 267 U/L

NOTAS

- Los volúmenes del reactivo y de la muestra se pueden alterar de forma proporcional para adaptarse a los diferentes requerimientos del espectrofotómetro.
- Si el cambio en la absorbancia es mayor de 0,45/min, repita el ensayo con menos muestra o diluya con una disolución salina. Acuértese de ajustar el factor para el menor volumen de muestra o multiplicar el resultado final por el factor de dilución.
- Los resultados válidos dependen de un instrumento calibrado con precisión, de la distribución, y del control de la temperatura.
- El coeficiente de absorción milimolar para el NADH a 334 nm = 6,18 y a 365 nm = 3,40.
- El factor calculado anterior es aplicable cuando se realiza el análisis en modo monocromático.
- Conversión de unidades: U/L x 16,67 x 10⁻³ = μ kat/L

CALIBRACIÓN

No requerida. La velocidad de reacción se convierte a U/L de actividad por medio de un factor de cálculo. Consulte la sección de calibración de este folleto.

CONTROL DE CALIDAD

Para asegurar un control de calidad adecuado, se deberían introducir controles normales y anormales con valores ensayados como muestras desconocidas:-

- Al menos una vez al día o según lo establecido por el laboratorio.
- Cuando se use una nueva botella de reactivo.
- Después de realizar un mantenimiento preventivo o de sustituir un componente crítico.

Los resultados de control que caen fuera de los límites superior o inferior de los intervalos establecidos indican que el ensayo puede estar fuera de control.

En tales situaciones se recomiendan las siguientes acciones correctoras:

- Repetir los mismos controles.
- Si los controles repetidos están fuera de los límites, preparar suero de control fresco y repetir la prueba.
- Si los resultados del material de control fresco aún permanecen fuera de los límites, repita la prueba con reactivo fresco.
- Si los resultados aún están fuera de control, contacte con el Servicio Técnico o con su distribuidor local.

LIMITACIONES

- Se llevaron a cabo estudios para determinar el nivel de interferencia debida a la hemoglobina, a la bilirrubina y a la piruvato. Se obtuvieron los siguientes resultados:
Hemoglobina: No se observa interferencia debida a hemoglobina hasta 300 mg/dL.
Bilirrubina libre: No se observa interferencia debida a la bilirrubina libre hasta 684 μ mol/L (40 mg/dL).
Bilirrubina conjugada: No se observa interferencia debida a la bilirrubina conjugada hasta 684 μ mol/L (40 mg/dL).
Piruvato: No se observa interferencia debida a piruvato hasta 2,3 mmol/L (20 mg/dL).
- No se deben utilizar muestras de suero hemolizadas. Los niveles de actividad de la ALT en eritrocitos son unas 7 veces más altos que en suero.⁶
- Evite el uso de muestras lipémicas.
- Young DS⁷ ha publicado una amplia lista de medicamentos y sustancias que pueden interferir con este ensayo.

VALORES ESPERADOS⁸

A 37°C Adultos: 10 - 35 U/L (0,167 - 0,585 μ kat/L)
Neonatos/Lactantes: 7 - 40 U/L (0,117 - 0,668 μ kat/L)

Los valores indicados son representativos del intervalo esperado para este procedimiento y únicamente deberían servir como guía. Se recomienda que cada laboratorio verifique este intervalo o derive un intervalo de referencia para la población que atiende.⁹

DATOS DE FUNCIONAMIENTO

Los siguientes datos se obtuvieron usando el reactivo líquido de ALT(GPT) de dos partes en un analizador químico clínico automatizado con un buen mantenimiento. Los usuarios deberían establecer un comportamiento del producto en su analizador específico usado.

IMPRECISIÓN

La imprecisión se evaluó usando dos niveles de controles comerciales y siguiendo el procedimiento NCCLS EP5-T¹⁰.

Intra análisis:	NIVEL I	NIVEL II
Número de puntos de datos	80	80
Media (U/L)	34	99
Media (μ kat/L)	0,568	1,65
DD (U/L)	1,16	1,28
DD (μ kat/L)	0,019	0,021
CV (%)	3,4	1,3

Total:	NIVEL I	NIVEL II
Número de puntos de datos	80	80
Media (U/L)	34	99
Media (μ kat/L)	0,568	1,65
DD (U/L)	1,47	3,48
DD (μ kat/L)	0,025	0,058
CV (%)	4,3	3,5

COMPARACIÓN DEL MÉTODO

Los estudios de comparación se llevaron a cabo usando un reactivo de ALT(GPT) disponible comercialmente similar como referencia. Se ensayaron las muestras de suero en paralelo y los resultados se compararon mediante una regresión de mínimos cuadrados. Se obtuvieron las siguientes estadísticas:

Número de pares de muestras	65
Intervalo de resultados de las muestras	6 - 186 U/L (0,100 - 3,11 μ kat/L)
Media de los resultados de los procedimientos de referencia	47 U/L (0,785 μ kat/L)
Media de los resultados de ALT(GPT)	38 U/L (0,635 μ kat/L)
Pendiente	0,80
Ordenada en el origen	-0,03 U/L (-0,001 μ kat/L)
Coefficiente de correlación	0,998

LINEALIDAD

Cuando se realiza según las recomendaciones, el ensayo resulta lineal hasta 1500 U/L (25,1 μ kat/L).

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

Cuando se realiza según las recomendaciones, la sensibilidad de este ensayo es de 0,30 Δ mA/min por U/L (18,0 Δ mA/min por μ kat/L).

BIBLIOGRAFÍA

- Zilva JF, Pannall PR. "Plasma Enzymes in Diagnosis" in Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment. Lloyd-Luke London. 1979: Chap 17:338.
- Wroblewski F, LaDue JS. Proc Sec Exp Biol and Med 1956; 34:381.
- Henry RJ, et al. Am Jnl Clin Path 1960; 34:381.
- Bergmeyer HU, et al. Clin Chem 1978; 24:58-73.
- Murray RL. "Alanine aminotransferase" in Clinical Chemistry. Theory, analysis and correlation. Kaplan LA, Pesce AJ (Eds), CV Mosby St Louis 1984:1090.
- Burtis CA, Ashwood ER, "Tietz textbook of Clinical Chemistry" Second Edition, 1994; 795.
- Young DS, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition. 1990: 3:6-12.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Burtis CA and Ashwood ER (Eds). Second Edition, WB Saunders Company, 1994.
- Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry devices NCCLS, 1984, NCCLS Publication EP5-T.



Fisher Diagnostics
a division of Fisher Scientific Company, LLC
a part of Thermo Fisher Scientific Inc.
Middletown, VA 22645-1905 USA
Phone: 800-528-0494
540-869-3200
Fax: 540-869-8132



MDCI Ltd.
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing, West Sussex BN11 1SL UK



840347 (R1)

© 2009 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. Hitachi is a registered trademark of Roche Diagnostics, Indianapolis, IN 46250. ILab 600 is a registered trademark of Instrumentation Laboratory Company, Lexington, MA 02421. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

REF

Información de Pedidos

No de Catalogue	REAG 1	REAG 2
TR18920	1 x 125 mL	1 x 35 mL
TL18901 (ILab 600)	5 x 80 mL	5 x 20 mL
TH18901 (Hitachi)	4 x 80 mL	4 x 20 mL
TY18901 (Hitachi)	4 x 53 mL	4 x 15 mL
7500-104A	4 x 500 mL	
7500-204A		2 x 250 mL