



GPT(ALT)

LINEA LIQUIDA



AA

Método UV optimizado (IFCC) para la determinación de alanina aminotransferasa (GPT/ALT) en suero o plasma

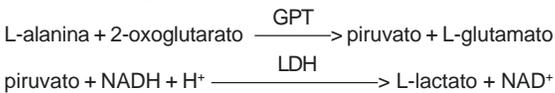
SIGNIFICACION CLINICA

La alanina aminotransferasa (ALT o GPT) es una enzima unicelular (citoplasmática) cuya mayor actividad se localiza en el tejido hepático. La destrucción o cambio de permeabilidad de las membranas celulares provoca la liberación de ALT a la circulación sanguínea.

Los mayores aumentos de actividad ALT en suero, se producen como consecuencia de alteraciones hepáticas. En el caso de hepatitis virales, el aumento de ALT precede a la aparición de ictericia, alcanzando un máximo luego de la observación de dicho síntoma. Si los valores permanecen elevados luego de 6 semanas, debe pensarse en la posibilidad de una hepatitis activa o en el comienzo de una hepatitis crónica, por lo que es de utilidad las determinaciones seriadas de la enzima. La determinación de ALT adquiere importancia diagnóstica cuando sus valores se comparan con los de otras enzimas de similar origen tisular, permitiendo así completar el perfil enzimático de órganos como el hígado.

FUNDAMENTOS DEL METODO

Basado en el siguiente esquema reaccionante:



REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución de buffer TRIS pH 7,5 conteniendo L-alanina.

B. Reactivo B: solución conteniendo 2-oxoglutarato, nicotinamida adenina dinucleótido reducido (NADH) y lactato deshidrogenasa (LDH).

Concentraciones finales

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

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar. Estos pueden usarse separados o como **Reactivo único**, mezclando 4 partes de Reactivo A con 1 parte de Reactivo B (ej.: 4 ml Reactivo A + 1 ml Reactivo B).

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro". Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales

de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. Una vez abiertos, no deben permanecer fuera del refrigerador por períodos prolongados. Evitar contaminaciones.

Reactivo único (premezclado): estable 2 meses en refrigerador (2-10°C) a partir de la fecha de su preparación.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Cuando el espectrofotómetro ha sido llevado a cero con agua destilada, lecturas de absorbancia del Reactivo único inferiores a 0,900 D.O. o superiores a 1,800 D.O. (a 340 nm) son indicio de deterioro del mismo.

MUESTRA

Suero o plasma

a) Recolección: se debe obtener de la manera usual.

b) Aditivos: en caso de que la muestra a utilizar sea plasma, se puede usar heparina o EDTA como anticoagulantes.

c) Sustancias interferentes conocidas:

- Las muestras provenientes de pacientes hemodializados o con hipovitaminosis o patologías asociadas con deficiencia de piridoxal fosfato producen valores falsamente disminuidos.

- No se observan interferencias por bilirrubina hasta 25 mg/dl, ni triglicéridos hasta 1000 mg/dl. La hemoglobina interfiere significativamente aumentando los resultados, a partir de hemólisis moderada, debido a la presencia de GPT en los eritrocitos.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la GPT en suero es estable hasta 3 días en refrigerador, sin agregado de conservantes. No congelar.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro.

- Micropipetas y pipetas capaces de medir los volúmenes indicados.

- Baño de agua a la temperatura indicada en el procedimiento a seguir.

- Cronómetro.

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 340 nm
- Temperatura de reacción: 25, 30 ó 37°C. Ver los VALORES DE REFERENCIA correspondientes a cada temperatura.
- Tiempo de reacción: 4 minutos
- Volumen de muestra: 100 ul

Los volúmenes de Muestra y de Reactivo pueden variarse proporcionalmente, sin que varíen los factores de cálculo.

PROCEDIMIENTO

A) 30 ó 37°C

I- TECNICA CON REACTIVO UNICO

En una cubeta mantenida a 30-37°C, colocar:

Reactivo único	1,0 ml
-----------------------	--------

Preincubar unos minutos. Luego agregar:

Muestra	100 ul
----------------	--------

Mezclar inmediatamente y disparar simultáneamente el cronómetro. Esperar 90 segundos y leer la absorbancia inicial (ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO) y luego a los 1, 2 y 3 minutos de la primera lectura. Determinar la diferencia promedio de absorbancia/min ($\Delta A/\text{min}$), restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.

II- TECNICA CON REACTIVOS SEPARADOS

En una cubeta mantenida a 30-37°C, colocar:

Reactivo A	0,80 ml
-------------------	---------

Muestra	100 ul
----------------	--------

Preincubar unos minutos. Luego agregar:

Reactivo B	0,20 ml
-------------------	---------

Mezclar inmediatamente y disparar simultáneamente el cronómetro. Esperar 90 segundos y leer la absorbancia inicial (ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO) y luego a los 1, 2 y 3 minutos de la primera lectura. Determinar la diferencia promedio de absorbancia/min ($\Delta A/\text{min}$), restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.

B) 25°C

Emplear 250 ul de Muestra siguiendo el procedimiento indicado en A).

CALCULO DE LOS RESULTADOS

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

En cada caso deberá emplearse el factor de cálculo correspondiente de acuerdo a la temperatura de reacción seleccionada:

$\text{factor}_{(30-37^\circ\text{C})} = 1.746$

$\text{factor}_{(25^\circ\text{C})} = 794$

VALORES DE REFERENCIA

Temperatura	25°C*	30°C*	37°C
Hombres	hasta 22 U/l	hasta 29 U/l	hasta 41 U/l
Mujeres	hasta 17 U/l	hasta 22 U/l	hasta 31 U/l

* Calculados

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

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

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con actividades conocidas de GPT, con cada determinación.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA. Absorbancia inicial baja: cuando una vez agregado el suero la primera lectura (tiempo 0) es inferior a 0,900 D.O., estando el Reactivo B en condiciones, indica una muestra con muy alta actividad de GPT (que consume el NADH aún antes de esta lectura) o con una concentración de cetoácidos endógenos particularmente elevada. En este caso, repetir la determinación con muestra diluida con solución fisiológica y multiplicar el resultado por la dilución efectuada.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: procesando simultáneamente replicas de una misma muestra, se obtiene:

Nivel	D.S.	C.V.
43,35 U/l	$\pm 1,31 U/l$	3,02 %
119,70 U/l	$\pm 2,18 U/l$	1,82 %

b) Sensibilidad: el mínimo cambio de actividad detectable de GPT que puede distinguirse de cero es de 2 U/l.

c) Rango dinámico: el rango útil de lectura se extiende hasta 0,345 $\Delta A/\text{min}$ (a 340 nm). Si la $\Delta A/\text{min}$ es superior a 0,345, se debe repetir la determinación con muestra diluida (1:5 ó 1:10) con solución fisiológica, corrigiendo los resultados según el factor de dilución empleado.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso.

PRESENTACION

200 ml: - 4 x 40 ml Reactivo A
- 1 x 40 ml Reactivo B
(Cód. 1762360)

250 ml: - 4 x 50 ml Reactivo A
- 4 x 12,5 ml Reactivo B
(Cód. 1009322)

250 ml: - 4 x 50 ml Reactivo A
- 4 x 12,5 ml Reactivo B
(Cód. 1009263)

250 ml: - 4 x 50 ml Reactivo A
- 4 x 12,5 ml Reactivo B
(Cód. 1009620)

BIBLIOGRAFIA

- IFCC - Clin. Chim. Acta 70/2:F19 (1976).
- SSCC - Scand. J. Clin. Lab. Invest. 33:291 (1974).
- DGKC - Z. Klin. Chem. 10:281 (1972).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- 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.

SIMBOLOS

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.

 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea

 Uso diagnóstico "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos

 Fecha de caducidad

 Límite de temperatura (conservar a)

 No congelar

 Riesgo biológico

 Volumen después de la reconstitución

 Contenido

 Número de lote

 Elaborado por:

 Nocivo

 Corrosivo / Caústico

 Irritante

 Consultar instrucciones de uso

 Calibrador

 Control

 Control Positivo

 Control Negativo

 Número de catálogo

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Cert. N°: 4613/02



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina