



GPT(ALT)

unitest

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 unilocular (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.

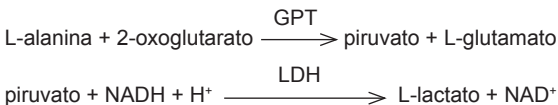
Los mayores aumentos de actividad ALT en suero, se producen como consecuencia de alteraciones hepáticas.

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: viales conteniendo 2-oxoglutarato, nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) y lactato deshidrogenasa (LDH).

B. Reactivo B: solución de buffer TRIS pH 7,5 (a 30°C) conteniendo L-alanina.

Concentraciones finales (según IFCC y 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-oxoglutarato.....	15 mmol/l

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivo B: listo para usar.

Reactivo A: agregar 2 ml de Reactivo B a un frasco de Reactivo A. Tapar, agitar hasta disolución completa y fechar.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

El Reactivo B contiene azida.

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.

Reactivo A reconstituido: estable 5 días en refrigerador (2-10°C) o 1 día a temperatura ambiente a partir del momento de su reconstitución.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Cuando el espectrofotómetro ha sido llevado a cero con agua destilada, lecturas de absorbancia del Reactivo A reconstituido inferiores a 0,800 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 debe usar heparina como anticoagulante.

c) Sustancias interferentes conocidas:

- Las muestras con hemólisis visible o intensa producen valores falsamente aumentados por lo que no deben ser usados.

- Las muestras de pacientes hemodializados o con hipovitaminosis u otras patologías asociadas con deficiencia de piridoxal fosfato producen valores falsamente disminuidos. 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 (2-10°C), sin agregado de conservantes. No congelar.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro.

- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.

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

- Cronómetro.

CONDICIONES DE REACCION

(Disminución de absorbancia)

- Longitud de onda: 340 nm (Hg 334 ó 366).
 - Temperatura de reacción: 25, 30 ó 37°C. Ver los VALORES DE REFERENCIA correspondientes a cada temperatura.
 - Tiempo de reacción: 4 minutos.
- Volumenes de Muestra y de Reactivo A reconstituido: pueden reducirse proporcionalmente, sin que varíen los factores de cálculo correspondientes.

PROCEDIMIENTO

A) 30 ó 37°C

I- MACROTECNICA

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

Reactivo A reconstituido	2 ml
Muestra	200 ul

Mezclar inmediatamente y disparar simultáneamente el cronómetro. Luego de 1 minuto registrar 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- MICROTECNICA

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

Reactivo A reconstituido	1 ml
Muestra	100 ul

Mezclar inmediatamente y disparar simultáneamente el cronómetro. Continuar de modo similar al descrito en el procedimiento (A-I).

B) 25°C

MACROTECNICA

Emplear 500 ul de Muestra. Luego de agregar la muestra mezclar inmediatamente y disparar simultáneamente el cronómetro. Luego de 3 minutos registrar la absorbancia inicial (ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO). Continuar de modo similar al descrito en el procedimiento A-I.

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 (30-37°C o 25°C), como se indica en la siguiente tabla:

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

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.

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

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

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 0,800 D.O., estando el Reactivo A (sustrato) 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 cetóácidos endógenos particularmente elevada. En este caso, repetir la determinación con muestra diluida con solución fisiológica y multiplicar el resultado por la dilución efectuada. La humectación es causa de deterioro del Reactivo A.

PERFORMANCE

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

Nivel	D.S.	C.V.
19,8 U/l	$\pm 1,11 U/l$	5,63 %
118 U/l	$\pm 2,02 U/l$	1,71 %

b) Límite de detección: depende del fotómetro empleado y de la longitud de onda. De acuerdo con la sensibilidad requerida, en espectrofotómetros con cubetas de caras paralelas de 1 cm de espesor, reproducibilidad ± 2 nm, luz espuria $\leq 0,5\%$ y semiancho de banda ≤ 8 nm, para un $\Delta A/\text{min}$ de 0,001 el mínimo cambio de actividad detectable será de 1,8 U/l (a 340 nm y 30 ó 37°C).

c) Rango dinámico: el rango útil de lectura se extiende hasta 0,200 $\Delta A/\text{min}$ (a 340 nm). Si la $\Delta A/\text{min}$ es superior a 0,200 (a 340-334 nm) o 0,100 (a 366 nm) se debe repetir la determinación con muestra diluida (1:5 ó 1:10) con solución fisiológica, corrigiendo consecuentemente los resultados.

PRESENTACION

- 20 x 2 ml (Cód. 1761351).

BIBLIOGRAFIA

- I.F.C.C. - Clin. Chim. Acta 105:147 F (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

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.
Disp. N°: 7450/87 - 374/00 - 2402/00

 **Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina