



GPT(ALT)

LINEA LIQUIDA



AA

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

SIGNIFICACION CLINICA

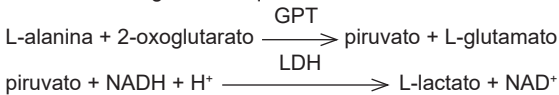
La alanina aminotransferasa (ALT o GPT) es una enzima unilocular (citoplasmática) cuya mayor actividad se localiza en el tejido hepático. La destrucción o cambio de permeabilidad de las membranas celulares provoca la liberación de ALT a la circulación sanguínea.

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: 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:

factor_(30-37°C) = 1.746

factor_(25°C) = 794

VALORES DE REFERENCIA

Temperatura	25°C ⁽¹⁾	30°C ⁽¹⁾	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

⁽¹⁾ 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	± 1,31 U/l	3,02 %
119,70 U/l	± 2,18 U/l	1,82 %

b) **Sensibilidad:** el mínimo cambio de actividad detectable de GOT 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

100 ml: - 4 x 20 ml Reactivo A
 - 2 x 10 ml Reactivo B
(Cód. 1009812)

180 ml: - 4 x 36 ml Reactivo A
 - 4 x 9 ml Reactivo B
(Cód. 1008112)*

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)

250 ml: - 4 x 50 ml Reactivo A
- 4 x 12,5 ml Reactivo B
(Cód. 1009928)

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.

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 / Cáustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control



Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo



GPT(ALT)

LINHA LÍQUIDA



AA

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

SIGNIFICADO CLÍNICO

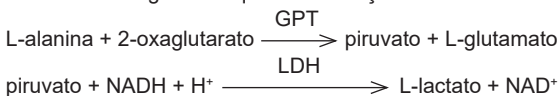
A alanina aminotransferase (ALT ou GPT) é uma enzima unilocular (citoplasmática), cuja maior atividade localiza-se no tecido hepático. A destruição ou mudança de permeabilidade das membranas celulares provoca a liberação de ALT na circulação sanguínea.

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, imediatamente 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: solução de Tampão TRIS pH 7,5 contendo L-alanina.

B. Reagente B: solução contendo 2-oxaglutarato, nicotinamida adenina dinucleótido 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	$\geq 1,5$ U/l
2-oxaglutarato	15 mmol/l

INSTRUÇÕES DE USO

Reagentes Fornecidos: prontos para uso. Podem-se utilizar separados 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".

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 de vencimento indicada na embalagem.

Uma vez abertos não devem permanecer fora do refrigerador durante períodos prolongados. Evitar contaminações.

Reagente único (pre-misturado): estável sob refrigeração (2-10°C) por 2 meses a contar da data de sua preparação.

INDÍCIOS DE INSTABILIDADE O DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES

Quando o espectrofotômetro foi zerado com água destilada, leituras de absorbância do Reagente único inferiores a 0,900 D.O. ou superiores a 1,800 D.O. (a 340 nm) são indicio de deterioração do mesmo.

AMOSTRA

Soro ou plasma

a) Coleta: deve-se obter da forma habitual.

b) Aditivos: caso de utilizar plasma como amostra, deve-se empregar heparina ou EDTA como anticoagulantes.

c) Substâncias interferentes conhecidas:

- As amostras de pacientes hemodialisados ou com hipovitaminose ou outras patologias associadas com deficiência de piridoxal fosfato produzem valores falsamente menores.

- Não se observam interferências por bilirrubina até 25 mg/dl nem triglicérides até 1000 mg/dl. A hemoglobina interfere significativamente aumentando os resultados, partindo de hemólise moderada, pela presença de GPT nos eritrócitos.

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 necessidade de adicionar conservantes. Não congelar.

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro.

- Micropipetas e pipetas capazes de medir os volumes indicados.

- Banho-maria à temperatura indicada no procedimento a seguir.

- Cronômetro.

CONDIÇÕES DE REAÇÃO

- Comprimento de onda : 340 nm

- Temperatura de reação: 25, 30 ou 37°C. Vide os VALORES DE REFERÊNCIA correspondentes a cada temperatura.
 - Tempo de reação: 4 minutos
 - Volume de amostra: 100 ul
- Os volumes de Amostra e de Reagente, podem-se mudar proporcionalmente sem que variem os fatores de cálculo.

PROCEDIMENTO

A) 30 ou 37°C

I- TÉCNICA COM REAGENTE ÚNICO

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

Reagente único	1,0 ml
----------------	--------

Pré-incubar uns minutos. Após acrescentar:

Amostra	100 ul
---------	--------

Misturar imediatamente e disparar simultaneamente o cronômetro. Após 90 segundos, registrar a absorbância inicial (vide LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO) e passados os minutos 1, 2 e 3 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- TÉCNICA COM REAGENTES SEPARADOS

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

Reagente A	0,80 ml
------------	---------

Amostra	100 ul
---------	--------

Pré-incubar uns minutos. Após acrescentar:

Reagente B	0,20 ml
------------	---------

Misturar imediatamente e disparar simultaneamente o cronômetro. Após 90 segundos, registrar a absorbância inicial (vide LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO) e passados os minutos 1, 2 e 3 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.

B) 25°C

Utilizar 250 ul de Amostra seguindo o procedimento indicado em A).

CÁLCULO DOS RESULTADOS

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

Em cada caso deve-se utilizar o fator de cálculo correspondente conforme com a temperatura de reação selecionada:

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

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

VALORES DE REFERÊNCIA

Temperatura	25°C ⁽¹⁾	30°C ⁽¹⁾	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

⁽¹⁾ Calculados

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

CONVERSÃO DE UNIDADES AO SISTEMA SI

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

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.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA. Absorbância inicial baixa: uma vez acrescentado o soro, a primeira leitura (tempo 0) é inferior a 0,900 D.O., encontrando-se o Reactivo B em boas condições, indica uma amostra com muita atividade de GPT (que consome o NADH muito antes de esta leitura) ou com uma concentração de cetocácidos endógenos particularmente elevada. Neste caso, repetir a determinação com amostra diluída com solução fisiológica e multiplicando o resultado conforme à diluição já realizada.

DESEMPENHO

a) Reprodutibilidade: processando simultaneamente duplicatas da mesma amostra, obteve-se o seguinte:

Nível	D.P.	C.V.
43,35 U/l	± 1,31 U/l	3,02 %
119,70 U/l	± 2,18 U/l	1,82 %

b) Sensibilidade: a mudança mínima de atividade detectável de GPT 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). Se a $\Delta A/\text{min}$ é superior a 0,345, deve-se repetir a determinação com amostra diluída (1:5 ou 1:10) com solução fisiológica, corrigindo os resultados conforme ao fator de diluição empregado.

PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Para a programação consultar o manual de uso do analisador a ser utilizado.

APRESENTAÇÃO

100 ml: - 4 x 20 ml Reagente A
 - 2 x 10 ml Reagente B
 (Cód. 1009812)

180 ml: - 4 x 36 ml Reagente A
 - 4 x 9 ml Reagente B
 (Cód. 1008112)*

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

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

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

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

250 ml: - 4 x 50 ml Reagente A
- 4 x 12,5 ml Reagente B
(Cód. 1009928)

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).
- 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.

SÍMBOLOS

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



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

EC REP Representante autorizado na Comunidade Europeia



Uso médico-diagnóstico "in vitro"



Conteúdo suficiente para <n> testes



Data de validade



Limite de temperatura (conservar a)



Não congelar



Risco biológico



Volume após a 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



GPT(ALT)

LIQUID LINE



AA

Optimized UV method (IFCC) for the determination of Alanine Aminotransferase (ALT/GPT) in serum or plasma

SUMMARY

Alanine Aminotransferase (ALT or GPT) is an unilocal (cytoplasmic) enzyme, and its highest activity is located in the hepatic tissue.

The destruction or any change in the permeability of the cellular membranes causes the releasing of ALT into the blood stream.

The highest increases of ALT activity in serum are caused by hepatic alterations.

In the case of viral hepatitis, the increase of ALT precedes jaundice, reaching the maximum after this symptom is observed. If the values remain high after 6 weeks, the possibility of an active hepatitis or the beginning of a chronic hepatitis must be inferred, that is why the serial determinations of the enzyme are very useful.

ALT determination becomes of diagnostic importance when its values are compared with the values of other enzymes of similar tissue origin, allowing to complete the enzymatic profile of organs such as the liver.

PRINCIPLE

The reaction system is as follows:



PROVIDED REAGENTS

A. Reagent A: TRIS buffer solution, pH 7.5 with L-Alanine.

B. Reagent B: vials containing 2-Oxoglutarate, reduced NADH and Lactate Dehydrogenase (LDH).

Final concentrations

TRIS	100 mmol/l; pH 7.5
L-Alanine500 mmol/l
NADH	0.18 mmol/l
LDH	≥ 1.5 U/l
2-Oxoglutarate.....	15 mmol/l

INSTRUCTIONS FOR USE

Provided Reagents: ready to use. They may be used separately or as **Monoreagent**, mixing 4 parts Reagent A and 1 part Reagent B (e.g. 4 ml Reagent A + 1 ml Reagent B).

WARNINGS

Reagents are for "in vitro" diagnostic use.

Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories.

The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

Provided Reagents: stable in refrigerator (2-10°C) until the expiration date shown on the box.

Once opened, do not keep out of the refrigerator for extended periods of time. Avoid contamination.

Monoreagent (premixed): stable in refrigerator for 2 months (2-10°C) from reconstitution date.

INSTABILITY OR DETERIORATION OF REAGENTS

When spectrophotometer has been set to zero with distilled water, absorbance readings of the Monoreagent < 0.900 O.D. or > 1.800 O.D. (at 340 nm), indicate its deterioration.

SAMPLE

Serum or plasma

a) Collection: obtain in the usual way.

b) Additives: when using plasma, only use heparin or EDTA as anticoagulants.

c) Known interfering substances:

- Samples from hemodialyzed patients or patients with hypovitaminosis of other pyridoxal phosphate deficiencies produce falsely decreased values.

- No interferences are observed by bilirubin up to 25 mg/dl, triglycerides up to 1000 mg/dl. Hemoglobin significantly interferes increasing the results because of GPT presence in erythrocytes.

See Young, D.S. in References for effect of drugs on the present method.

d) Stability and storage instructions: GPT in serum is stable in refrigerator up to 3 days without preservatives. Do not freeze.

REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Spectrophotometer.

- Micropipettes and pipettes for measuring the stated volumes

- Water bath at temperature indicated under PROCEDURE.

- Stopwatch.

ASSAY CONDITIONS

- Wavelength: 340 nm

- Reaction temperature: 25, 30 or 37°C. See REFERENCE VALUES corresponding to each temperature.

- Reaction time: 4 minutes.
 - Sample volume: 100 ul.
- Sample and Reagent volumes may be proportionally changed, without altering the corresponding calculation factors.

PROCEDURE

A) 30 or 37°C

I- MONOREAGENT TECHNIQUE

In a cuvette at 30-37°C, place:

Monoreagent	1.0 ml
--------------------	--------

Preincubate for a few minutes. Then add:

Sample	100 ul
---------------	--------

Mix immediately and simultaneously start stopwatch. After 90 seconds record initial absorbance (see PROCEDURE LIMITATIONS) and then at 1, 2 and 3 minutes after the first reading. Determine average change in Absorbance/min ($\Delta A/\text{min}$), subtracting each reading from the previous one and averaging these values. Use this mean for calculations.

II- SEPARATE REAGENTS TECHNIQUE

In a cuvette at 30-37°C, place:

Reagent A	0.80 ml
------------------	---------

Sample	100 ul
---------------	--------

Preincubate for a few minutes. Then add:

Reagent B	0.20 ml
------------------	---------

Mix immediately and simultaneously start stopwatch. After 90 seconds record initial absorbance (see PROCEDURE LIMITATIONS) and then at 1, 2 and 3 minutes after the first reading. Determine average change in Absorbance/min ($\Delta A/\text{min}$), subtracting each reading from the previous one and averaging these values. Use this mean for calculations.

B) 25°C

Use 250 ul Sample and follow the procedure described in A).

CALCULATIONS

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

In each case, the corresponding calculation factor should be used, depending on the selected reaction temperature:

$$\text{factor}_{(30-37^\circ\text{C})} = 1,746$$

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

REFERENCE VALUES

Temperature	25°C ⁽¹⁾	30°C ⁽¹⁾	37°C*
Men	up to 22 U/l	up to 29 U/l	up to 41 U/l
Women	up to 17 U/l	up to 22 U/l	up to 31 U/l

⁽¹⁾ Calculated

It is recommended that each laboratory establishes its own reference values.

SI SYSTEM UNITS CONVERSION

$$\text{GPT (U/l)} \times 0.017 = \text{GPT (ukat/l)}$$

QUALITY CONTROL METHOD

Each time the test is performed, analyze two levels of a quality control material (**Standatrol S-E 2 niveles**) with known alanina aminotransferase activity.

PROCEDURE LIMITATIONS

See Known Interfering Substances under SAMPLE.

Low initial absorbance: when the first reading (0 time) is lower than 0.900 O.D. after the serum addition, being the Reagent B in good conditions, it indicates a sample with a very high GPT activity (that consumes NADH even before this reading) or with a particularly high concentration of endogenous ketoacids. In this case, repeat assay with the sample diluted with saline solution and multiply the results by the dilution performed.

PERFORMANCE

a) Reproducibility: testing replicates of the same sample simultaneously, the following values are obtained:

Level	S.D.	C.V.
43.35 U/l	± 1.31 U/l	3.02 %
119.70 U/l	± 2.18 U/l	1.82 %

b) Sensitivity: the smallest detectable GPT activity distinguishable from zero will be 2 U/l.

c) Dynamic range: the reading range is extended up to 0.345 $\Delta A/\text{min}$ (at 340 nm). If the $\Delta A/\text{min}$ is higher than 0.345, repeat the assay with diluted sample (1:5 or 1:10) with saline solution, correcting the results according to the dilution factor used.

PARAMETERS FOR AUTOANALYZERS

For programming instructions check the user manual of the autoanalyzer in use.

WIENER LAB. PROVIDES

100 ml: - 4 x 20 ml Reagent A
 - 2 x 10 ml Reagent B
 (Cat. N°: 1009812)

180 ml: - 4 x 36 ml Reagent A
 - 4 x 9 ml Reagent B
 (Cat. N° 1008112)*

200 ml: - 4 x 40 ml Reagent A
 - 1 x 40 ml Reagent B
 (Cat. N°: 1762360)

250 ml: - 4 x 50 ml Reagent A
 - 4 x 12,5 ml Reagent B
 (Cat. N°: 1009322)

250 ml: - 4 x 50 ml Reagent A
 - 4 x 12,5 ml Reagent B
 (Cat. N°: 1009263)

250 ml: - 4 x 50 ml Reagent A
- 4 x 12,5 ml Reagent B
(Cat. N°: 1009620)


250 ml: - 4 x 50 ml Reagent A
- 4 x 12,5 ml Reagent B
(Cat. N°: 1009928)

REFERENCES

- 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.


SYMBOLS

The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits.

 This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices

 Authorized representative in the European Community

 "In vitro" diagnostic medical device


 Contains sufficient for <n> tests

 Use by

 Temperature limitation (store at)

 Do not freeze

 Biological risks

 Volume after reconstitution

 Contents


 Batch code

 Manufactured by:

 Harmful

 Corrosive / Caustic

 Irritant

 Consult instructions for use

 Calibrator

 Control

 Positive Control

 Negative Control

 Catalog number



GPT(ALT)

LINIA PŁYNNA



AA

Nr kat.: 1762360
Nr kat.: 1009263
Nr kat.: 1009322
Nr kat.: 1009620

Nr kat.: 1009812
Nr kat.: 1009928
Nr kat.: 1008112

Optymalizowana metoda UV (IFCC) do oznaczenia aminotransferazy alaninowej (ALT/GPT) w surowicy krwi lub osoczu

WSTĘP

Aminotransferaza alaninowa (ALT lub GPT) jest enzymem jednoprzędziowym (cytoplazmatycznym), o najwyższej aktywności w tkance wątrobowej. Zniszczenie lub jakakolwiek zmiana przepuszczalności błony komórkowej przyczynia się do uwalniania ALT do krwiobiegu.

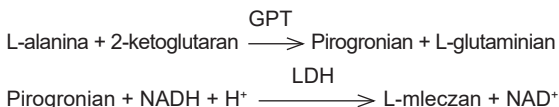
Najwyższy wzrost aktywności ALT w surowicy krwi jest spowodowany przez zmiany wątrobowe.

W przypadku wirusowego zapalenia wątroby, wzrost ALT wyprzedza żółtaczkę osiągając swe maksimum tuż po wystąpieniu objawów żółtaczki. Jeżeli wartości pozostają podniesione dłużej niż 6 tygodni należy przeprowadzić diagnostykę w kierunku aktywnego ostrego zapalenia wątroby lub przewlekłego procesu. Stąd seryjne oznaczenie enzymu może być bardzo pomocne.

Porównanie oznaczeń ALT z poziomami innych enzymów pochodzących z tych samych tkanek jest znaczące diagnostycznie i pozwala na określenie pełnego profilu enzymatycznego organów takich jak wątroba.

ZASADA DZIAŁANIA

Układ reakcji jest następujący:



DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

A. Odczynnik A: roztwór buforu Tris, pH 7,5 z L-alaniną.

B. Odczynnik B: fiołki zawierające 2-ketoglutaran, zredukowany NADH i dehydrogenazę mleczanową (LDH).

Końcowe stężenia

TRIS	100 mmol/l; pH 7,5
L-alanina	500 mmol/l
NADH	0,18 mmol/l
LDH	≥ 1,5 U/l
2-ketoglutaran	15 mmol/l

INSTRUKCJA UŻYCIA

Dostarczane odczynniki: gotowe do użycia. Mogą być zastosowane osobno lub jako Monoodczynnik, mieszając 4 części Odczynnik A z 1 częścią Odczynnika B (np. 4 ml Odczynnik A + 1 ml Odczynnik B).

OSTRZEŻENIA

Odczynniki diagnostyczne do zastosowania "in vitro".
Stosować odczynniki zgodnie z procedurami dla laboratoriów

klinicznych.

Odczynniki i materiał badany odrzucać zgodnie z lokalnymi przepisami.

TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Dostarczane odczynniki: trwałe w lodówce (2-10°C) do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu.

Po otwarciu nie trzymać poza lodówką przez dłuższy okres czasu. Unikać zanieczyszczenia.

Monoodczynnik (uprzednio zmieszany): trwały w lodówce przez 2 miesiące w temperaturze (2-10°C) od daty rozpuszczenia.

BRAK TRWAŁOŚCI I POGORSZENIE JAKOŚCI ODCZYNNIKÓW

Przy ustawieniu na zero spektrofotometru na wodzie destylowanej odczyty absorbancji Monoodzynnika < 0,900 O.D. lub > 1.800 O.D. (przy 340 nm) wskazują na pogorszenie jakości.

MATERIAŁ BADANY

Surowica krwi lub osocze

a) Pobranie: pobrać w klasyczny sposób.

b) Substancje dodatkowe: dla osocza stosować jako antykoagulanty wyłącznie heparynę lub EDTA.

c) Znane interakcje:

- Materiał pobrany od pacjentów hemodializowanych lub pacjentów z hypowitaminozą powodującą niedobory fosforanu pirydoksalu może dawać fałszywie obniżone wartości.
- Nie obserwowano interakcji z bilirubiną do 25 mg/dl, z trójglicerydami do 1000 mg/dl. Hemoglobina znacząco wpływa na wzrost wartości wyników ze względu na obecność GPT w erytrocytach.

Zobacz Źródło: Young, D.S. w sprawie wpływu leków w tej metodzie.

d) Trwałość i instrukcja przechowywania: GPT w surowicy jest trwałe w lodówce do 3 dni bez substancji konserwujących. Nie zamrażać.

WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT (niedostarczane)

- Spektrofotometr.
- Mikropipety i pipety do pomiaru określonej objętości.
- Łażnia wodna o temp. wskazanej w rozdz. PROCEDURA.
- Stoper.

WARUNKI DLA PRZEPROWADZENIA TESTU

- Długość fali: 340 nm.
- Temperatura reakcji: 25, 30 lub 37°C. Patrz WARTOŚCI

REFERENCYJNE odpowiadające danej temperaturze.

- Czas reakcji: 4 minuty.

- Objętość materiału badanego: 100 ul.

Objętości Materiału badanego i Odczynnika mogą być zmieniane proporcjonalnie, bez zmiany współczynnika do obliczeń.

PROCEDURA

A) 30 lub 37°C

I- METODA Z MONOODCZYNNIKIEM

W kuwecie o temperaturze 30-37°C, umieścić:

Monoodczynnik	1,0 ml
----------------------	--------

Inkubować wstępnie przez kilka minut. Następnie dodać:

Materiał badany	100 ul
------------------------	--------

Zamieszać natychmiast i równocześnie włączyć stoper.

Po 90 sekundach zanotować początkową absorbancję (patrz OGRANICZENIA PROCEDURY) a następnie w 1., 2. i 3. minucie po pierwszym odczycie. Obliczyć średnią zmianę absorbancji /min ($\Delta A/\text{min}$), odejmując kolejny odczyt od poprzedniego uśredniając wartości. Zastosować średnią do OBLICZEŃ.

II- METODA ODDZIELNYCH ODCZYNNIKÓW

W kuwecie o temperaturze 30-37°C, umieścić:

Odczynnik A	0,80 ml
--------------------	---------

Materiał badany	100 ul
------------------------	--------

Inkubować wstępnie przez kilka minut. Następnie dodać:

Odczynnik B	0,20 ml
--------------------	---------

Zamieszać natychmiast i równocześnie włączyć stoper.

Po 90 sekundach zanotować początkową absorbancję (patrz OGRANICZENIA PROCEDURY) a następnie w 1., 2. i 3. minucie po pierwszym odczycie. Obliczyć średnią zmianę absorbancji /min ($\Delta A/\text{min}$), odejmując kolejny odczyt od poprzedniego uśredniając wartości. Zastosować średnią do OBLICZEŃ.

B) 25°C

Użyć 250 ul Materiału badanego i postępować zgodnie z procedurą opisaną w punkcie A).

OBLICZENIA

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

W każdym przypadku należy zastosować odpowiedni współczynnik do obliczeń w zależności od wybranej temperatury reakcji:

współczynnik_(30-37°C) = 1746

współczynnik_(25°C) = 794

WARTOŚCI REFERENCYJNE

Temperatura	25°C ⁽¹⁾	30°C ⁽¹⁾	37°C*
Mężczyźni	do 22 U/l	do 29 U/l	do 41 U/l
Kobiety	do 17 U/l	do 22 U/l	do 31 U/l

⁽¹⁾ Wyliczone

Zaleca się dla każdego laboratorium ustalenie własnych wartości referencyjnych.

KONWERSJA JEDNOSTEK SI

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

METODA KONTROLI JAKOŚCI

W trakcie przeprowadzania badania, za każdym razem, należy przeprowadzać analizę jakości na dwóch poziomach (Standatrol S-E 2 niveles) ze znanym poziomem aktywności aminotransferazy alaninowej.

OGRANICZENIA PROCEDURY

Patrz Znane interakcje w rozdziale MATERIAŁ BADANY.

Niska absorbancja początkowa: kiedy pierwszy odczyt (czas 0) po dodaniu surowicy krwi jest mniejszy niż 0,900 O.D. a Odczynnik B jest prawidłowy oznacza to że materiał badany jest o bardzo wysokiej aktywności GOT (zużywa NADH nawet przed odczytem) lub mamy do czynienia ze szczególnie wysokim stężeniem endogennych kwasów ketonowych. W tym przypadku należy powtórzyć badanie z materiałem rozcieńczonym solą fizjologiczną a wyniki pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

a) Powtarzalność: badając powtórzenia tego samego materiału równocześnie, otrzymano następujące wartości:

Poziom	S.D.	C.V.
43,35 U/l	± 1,31 U/l	3,02 %
119,70 U/l	± 2,18 U/l	1,82 %

b) Czułość: najmniejsza wykrywalna aktywność GPT różna od zera wynosi 2 U/l.

c) Zakres dynamiczny: zakres odczytów jest rozszerzony do 0,345 $\Delta A/\text{min}$ (przy 340 nm). Jeżeli $\Delta A/\text{min}$ jest wyższa niż 0,345, powtórzyć badanie z próbką rozcieńczoną (1:5 lub 1:10) solą fizjologiczną, uwzględniając w obliczeniach odpowiedni współczynnik rozcieńczenia.

PARAMETRY DLA ANALIZATORÓW AUTOMATYCZNYCH

Celem programowania zapoznać się z instrukcją obsługi używanego analizatora automatycznego.

WIENER LAB. DOSTARCZA

100 ml: - 4 x 20 ml Odczynnik A
- 2 x 10 ml Odczynnik B
(Nr kat.: 1009812)

180 ml: - 4 x 36 ml Odczynnik A
- 4 x 9 ml Odczynnik B
(Nr kat. 1008112)

200 ml: - 4 x 40 ml Odczynnik A
- 1 x 40 ml Odczynnik B
(Nr kat.: 1762360)

250 ml: - 4 x 50 ml Odczynnik A
- 4 x 12,5 ml Odczynnik B
(Nr kat.: 1009322)

250 ml: - 4 x 50 ml Odczynnik A
- 4 x 12,5 ml Odczynnik B
(Nr kat.: 1009263)

250 ml: - 4 x 50 ml Odczynnik A
- 4 x 12,5 ml Odczynnik B
(Nr kat.: 1009620)


250 ml: - 4 x 50 ml Odczynnik A
- 4 x 12,5 ml Odczynnik B
(Nr kat.: 1009928)

ŹRÓDŁA


- 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.

Oznaczenia

Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.


 Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

 Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej

 Wyrób do diagnostyki "in vitro"

 Zawartość wystarczająca dla <n> badań

 Użyć przed

 Ograniczenie dopuszczalnych temperatur

 Nie zamrażać

 Ryzyko biologiczne

 Objętość po rozpuszczeniu

 Zawartość


 numer serii

 Wytwórca

 Substancja szkodliwa

 Substancja żrąca


 Substancja drażniąca

 Przed użyciem zapoznać się z instrukcją


 Kalibrator

 Próba kontrolna

 Próba kontrolna dodatnia

 Próba kontrolna ujemna

 Numer katalogowy

 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.
PM-1102-203



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina