ALAT (GPT) FS* (IFCC mod.)

Con/sin piridoxal–5–fosfato

Reactivo de diagnóstico para la determinación cuantitativa *In Vitro* de GPT (ALT) en suero o plasma en equipos fotométricos

Información de Pedido

Nº de pedido	Tamaño del envase						
1 2701 99 10 021	R1	5 x	20 mL	+	R2	1 x	25 mL
1 2701 99 10 026	R1	5 x	80 mL	+	R2	1 x	100 mL
1 2701 99 10 023	R1	1 x	800 mL	+	R2	1 x	200 mL
1 2701 99 10 704	R1	8 x	50 mL	+	R2	8 x	12.5 mL
1 2701 99 10 917	R1	8 x	60 mL	+	R2	8 x	15 mL
1 2701 99 10 191	R1	4 x	36 mL	+	R2	4 x	9 mL
1 2701 99 90 314	R1	10 x	20 mL	+	R2	2 x	30 mL

Para la determinacion con activacion con piridoxal-5-fosfato se requiere adicionalmente:
2 5010 99 10 030 6 x 3 mL

Resumen [1,2]

Alanino Aminotransferasa (ALAT/ALT), formalmente llamada Transaminasa Glutámico Pirúvica (GPT) y Aspartato Aminotransferasa (ASAT/AST) formalmente llamada Transaminasa Glutámico Oxalacética (GOT) son las más importantes representantes de un grupo de enzimas, las amino-transferasas o transaminasas, las cuales catalizan la conversión de alfa-ceto ácidos en aminoácidos por la transferencia de grupos amino.
Como una enzima hepática específica el ALT está sólo significativamente elevada en las enfermedades hepatobiliares. Los elevados niveles de AST, sin embargo, pueden ocurrir en conexión con daños del corazón o del músculo esquelético así como también del parénquima hepático. La medición paralela del ALT y el AST es por lo tanto aplicada para distinguir los daños hepáticos de los del corazón o del músculo esquelético.
La razón AST/ALT es utilizada para el diagnóstico diferencial en enfermedades hepáticas. Mientras que las razones < 1 indican un leve daño hepático, las razones > 1 están asociadas con enfermedades hepáticas severas, con frecuencia crónicas.

Método

Prueba–UV optimizada de acuerdo a IFCC (Federación Internacional de Química Clínica y Medicina de Laboratorio) [modificado].

Principio

L-Alanina + 2-Oxoglutarato <—ALAT—> L-Glutamat + Piruvato

Piruvato + NADH + H^+ <—LDH—> L-Lactato + NAD^+

La adición de piridoxal-5-fosfato (P-5-P) estabiliza las transaminasas y evita falsos valores bajos en las muestras que contienen P-5-P endógeno insuficiente, p.e. de pacientes con infarto de miocardio, enfermedad hepática y pacientes en cuidado intensivo [1].

Reactivos

Componentes y Concentraciones

R1:	TRIS	pH 7,15	140 mmol/L
	L-Alanina		700 mmol/L
	LDH (lactato dehidrogenasa)		≥ 2300 U/L
R2:	2-Oxoglutarato		85 mmol/L
	NADH		1 mmol/L
Piridoxal-5-Fosfato FS			
	Solución tampón	pH 9,6	100 mmol/L
	Piridoxal-5-fosfato		13 mmol/L

Instrucciones de Almacenamiento y Estabilidad del Reactivo

Los reactivos son estables hasta el final del mes indicado de expiración, si se almacena entre 2 – 8 °C, protegidos de la luz y evitando la contaminación. ¡No congele los reactivos!

Advertencias y Precauciones

1. Los reactivos contienen azida de sodio (0.95 g/L) como preservante. No tragar. Evitar el contacto con la piel y las membranas mucosas.
2. Tome las precauciones necesarias para el uso de los reactivos de laboratorio

Manipulación de Desechos

Por favor remítase a los requerimientos legales locales.

Preparación del Reactivo

Inicio con sustrato

Los reactivos están listos para usar.
Para la determinación con piridoxal-5-fosfato (P-5-P) mezcle 1 parte de P-5-P con 100 partes de reactivo 1,
p. ej. 100 µL P-5-P + 10 mL R1
La estabilidad después de la mezcla:
6 días entre 2 – 8 ºC
24 horas entre 15 – 25 °C

Inicio con muestra

(Sin piridoxal-5-fosfato)
Mezcle 4 partes de R1 + 1 parte de R2
(p. ej. 20 mL R1 + 5 mL R2) = monoreactivo
Estabilidad: 4 semanas entre 2 – 8 °C
5 días entre 15 – 25 °C
¡El monoreactivo debe ser protegido de la luz!

Materiales requeridos pero no suministrados

Piridoxal–5–fosfato en caso de determinación con activación de P–5–P, (Nº de pedido 2 5010 99 10 030)
Solución de NaCl 9 g/L
Equipo General de laboratorio

Tipo de muestra

Suero o plasma heparinizado o con EDTA
Estabilidad [4]:
3 días de 20 a 25 °C
7 días de 4 a 8 °C
7 días a - 20 °C
¡Desechar las muestras contaminadas!

Procedimento del Ensayo

Hay disponibles a petición aplicaciones para sistemas automáticos.

Longitud de onda	340 nm, Hg 365 nm, Hg 334 nm
Paso óptico	1 cm
Temperatura	37 °C
Medición	Contra el aire

Inicio con sustrato

Muestra/Calibrador	100 µL
Reactivo 1	1000 µL
Mezclar, incubar durante 5 min., luego añadir:	
Reactivo 2	250 µL
Mezclar, leer la absorbancia después de 1 min. y empezar a cronometrar. Leer la absorbancia nuevamente después de 1, 2 y 3 min.	

*Fluid Stable = líquido estable

Inicio con muestra
No usar P-5-P con inicio con muestra!

Muestra/Calibrador	100 µL
Monoreactivo	1000 µL

Mezclar, leer la absorbancia después de 1 min. y empezar a cronometrar. Leer la absorbancia nuevamente después de 1, 2 y 3 min.

Cálculo

Con factor
De las lecturas de absorbancia calcular ∆ A/min. y multiplicar por el factor correspondiente de la tabla de más abajo:

∆A/min. x factor = actividad de ALAT [U/L]

	Inicio con sustrato	Inicio con muestra
340 nm	2143	1745
334 nm	2184	1780
365 nm	3971	3235

Con calibrador

$$\text{ALAT } [U/L] = \frac{\Delta A/\text{min Muestra}}{\Delta A/\text{min Calibrador}} \times \text{Conc. Calibrador } [U/L]$$

Calibradores y Controles

Para la calibración de sistemas fotométricos automatizados se recomienda el uso del calibrador DiaSys TruCal U. Para el control interno de calidad los controles DiaSys TruLab N y P deberán probarse con cada lote de muestras.

	Cat. No.	Presentación
TruCal U	5 9100 99 10 063	20 x 3 mL
	5 9100 99 10 064	6 x 3 mL
TruLab N	5 9000 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9000 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9050 99 10 061	6 x 5 mL

Características de Desempeño

Rango de medida
La prueba ha sido desarrollada para determinar actividades de ALAT que corresponden a un máximo ∆A/min. de 0,16 a 340 y 334 nm o 0,08 a 365 nm.
Si tal valor es excedido la muestra debería ser diluida 1 + 9 con solución de NaCl (9 g/L) y los resultados multiplicados por 10.

Especificidad/Interferencias
No se observó ninguna interferencia con el ácido ascórbico hasta 30 mg/dL, bilirrubina hasta 40 mg/dL, hemoglobina hasta 400 mg/dL y lipemia hasta 2000 mg/dL de triglicéridos.

Sensibilidad/Límite de Detección
El límite más bajo de detección es 4U/L.

Precisión

Sin P-5-P

en la serie n = 20	valor medio [U/L]	DE [U/L]	CV [%]
Muestra 1	22,2	1,38	6,22
Muestra 2	44,8	1,17	2,62
Muestra 3	101	1,02	1,00

de un día a otro n = 20	valor medio [U/L]	DE [U/L]	CV [%]
Muestra 1	22,8	0.70	3,08
Muestra 2	42,6	0,68	1,60
Muestra 3	99,3	0,92	0,92

Con P-5-P

en la serie n = 20	valor medio [U/L]	DE [U/L]	CV [%]
Muestra 1	33,8	1,25	3,71
Muestra 2	72,0	2,04	2,83
Muestra 3	128	2,77	2,16

de un día a otro n = 20	valor medio [U/L]	DE [U/L]	CV [%]
Muestra 1	33,3	0,99	2,96
Muestra 2	72,1	1,36	1,88
Muestra 3	133	1,76	1,32

Método de Comparación

Con P-5-P
Una comparación entre ALAT (GPT) FS de DiaSys con P-5-P (y) con el reactivo de referencia de la IFCC (x) utilizando 51 muestras dio los siguientes resultados:
y = 1,000 x –0,200 U/L; r= 0,999.

Una comparación entre ALAT (GPT) FS de DiaSys con P-5-P (y) y un test comercialmente disponible (x) utilizando 51 muestras dio los siguientes resultados:
y = 0,970 x + 0,531 U/L; r= 1,000.

Sin P-5-P
Una comparación entre ALAT (GPT) FS de DiaSys sin P-5-P (y) y un test comercialmente disponible (x) utilizando 78 muestras dio los siguientes resultados:
y = 0,971 x + 0,047 U/L; r=1,000.

Rango de Referencia

Con activación de piridoxal–5–fosfato

Mujeres [3]		< 34 U/L
Hombres [3]		< 45 U/L
Niños [1]	1 – 30 días	< 25 U/L
	2 – 12 meses	< 35 U/L
	1 – 3 años	< 30 U/L
	4 – 6 años	< 25 U/L
	7 – 9 años	< 25 U/L
	10 – 18 años	< 30 U/L

Sin activación de piridoxal–5–fosfato

Mujeres	< 31 U/L
Hombres	< 41 U/L

Cada laboratorio debería comprobar la transmisibilidad de los valores de referencia de sus propios grupos de pacientes y, dado el caso, determinar sus propios valores de referencia.

Bibliografía

1. Thomas L. Alanine aminotransferase (ALT), Aspartate aminotransferase (AST). In: Thomas L, editor. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 55-65.
2. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 617-721.
3. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Férard G et al. IFCC primary reference procedure for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 5: Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alanine aminotransferase. Clin Chem Lab Med 2002;40:718-24.
4. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 14-5.

Fabricante

DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Alemania