

ALAT (GPT) FS* (IFCC mod.)

con/sin Piridoxal-5-Phosphate FS (P-5-P) (Piridoxal-5-fosfato FS)

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 90 314	R1 10 x 20 mL + R2 2 x 30 mL

Para la determinación con P-5-P se requiere adicionalmente:
2 5010 99 10 030 6 x 3 mL

Uso Previsto

Reactivo de diagnóstico para la determinación cuantitativa in vitro de ALAT (GPT) en suero o plasma en equipos fotométricos.

Resumen

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 aminotransferasas 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. [1,2]

Método

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

ALAT

L-Alanina + 2-Oxoglutarato \longleftrightarrow L-Glutamato + Piruvato

LDH

Piruvato + NADH + H⁺ \longleftrightarrow D-Lactato + NAD⁺

La adición de piridoxal 5-fosfato (P-5-P), recomendada por IFCC, se estabiliza la actividad de las transaminasas y evita valores falsamente bajos en muestras que contienen insuficiente P-5-P endógeno, por ejemplo de pacientes con infarto de miocardio, enfermedad hepática y pacientes en cuidado intensivo [1,3].

Reactivos

Componentes y Concentraciones

R1:	TRIS	pH 7,15	140 mmol/L
	L-Alanina		700 mmol/L
	MDH (malato deshidrogenasa)		≥ 800 U/L
	LHD (lactato deshidrogenasa)		≥ 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

Almacenamiento y Estabilidad del Reactivo

Los reactivos son estables hasta el final del mes indicado como fecha de expiración, si son almacenados entre 2 y 8 °C, y si se evita la contaminación. No congelar los reactivos y protegerlos de la luz.

Advertencias y Precauciones

- Los reactivos contienen azida de sodio (0.95 g/L) como conservante. ¡No ingerir! Evitar el contacto con la piel y membranas mucosas.
- El reactivo 1 contiene material de origen animal. Tratar el producto como potencialmente infeccioso según las precauciones universales y la buena práctica de laboratorio.
- En casos muy raros, especímenes de pacientes sufriendo de gammopatías podrían acabar en valores falsificados [4].
- La medicación con sulfasalazina y sulfapiridina puede acabar en resultados falsos en muestras de pacientes. La toma de sangre debe realizarse antes de que se administre el medicamento.
- Consultar las fichas de seguridad de los reactivos y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación de reactivos de laboratorio. Para el diagnóstico, se recomienda evaluar los resultados según la historia médica del paciente, los exámenes clínicos así como los resultados obtenidos con otros parámetros.
- Únicamente para el empleo profesional.

Manipulación de Desechos

Remitirse a los requerimientos legales locales.

Preparación del Reactivo

Inicio con sustrato

Los reactivos son listos para usar.

Para la determinación con P-5-P mezclar 1 parte de P-5-P con 100 partes del reactivo 1, por ejemplo 100 µL P-5-P + 10 mL R1

Estabilidad después

de mezclar:	6 días	de	2 a 8 °C
	24 horas	de	15 a 25 °C

Inicio con muestra

sin P-5-P

Mezclar 4 partes de R1 + 1 parte de R2 (por ejemplo 20 mL R1 + 5 mL R2) = monoreactivo

Estabilidad:	4 semanas	de	2 a 8 °C
	5 días	de	15 a 25 °C

Proteger el reactivo mono de la luz.

Materiales Requeridos

Equipo general de laboratorio

Espécimen

Suero o plasma heparinizado

Estabilidad [5]:

3 días	de	20 a 25 °C
7 días	de	4 a 8 °C
7 días	de	-20 °C

Congelar sólo una vez. Desechar las muestras contaminadas.

Procedimiento 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.	

Inicio con muestra

No usar P-5-P en caso de 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 la absorbancia calcular $\Delta A/\text{min}$ y multiplicar por el factor correspondiente de la tabla de más abajo:

$\Delta A/\text{min} \times \text{factor} = \text{actividad ALAT [U/L]}$

Inicio con sustrato

340 nm	2143
334 nm	2184
365 nm	3971

Inicio con muestra

340 nm	1745
334 nm	1780
365 nm	3235

Con calibrador

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

Factor de Conversión

$$\text{ALAT [U/L]} \times 0.0167 = \text{ALAT [\mu\text{kat/L}]}$$

Calibradores y Controles

Se recomienda TruCal U de DiaSys para la calibración. Este método ha sido estandarizado frente a la fórmula original de la IFCC. Utilizar TruLab N y P de DiaSys para el control de calidad interno. Cada laboratorio debería establecer medidas correctoras en caso de obtener valores fuera del intervalo

	N° de pedido	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

Datos evaluados en BioMajesty® JCA-BM6010/C

Los datos mencionados a continuación como ejemplos podrían diferir ligeramente en el caso de diferentes condiciones de la medición.

Con P-5-P

Rango de medición en equipos automatizados hasta 600 U/L. En procedimiento manual, actividades de ALAT hasta $\Delta A/\text{min}$. de 0,16 a 340 y 334 nm ó de 0,08 a 365 nm.	
Cuando los valores exceden este rango, diluir las muestras 1 + 9 con solución NaCl (9 g/L) y multiplicar el resultado por 10.	
Límite de prueba**	0,6 U/L

Sustancia interferente	Interferencias $\leq 10\%$ hasta
Ácido ascórbico	30 mg/dL
Bilirrubina (conjugada et no conjugada)	54 mg/dL
Hemoglobina	500 mg/dL
Lipemia (Triglicéridos)	400 mg/dL

Para más información sobre interferencias, véase Young DS [6].

Precisión			
En la serie (n=20)	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Valor medio [U/L]	33,7	80,3	192
CV [%]	1,37	0,89	0,80
De un día a otro (n=20)	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Valor medio [U/L]	33,9	80,4	191
CV [%]	1,86	1,29	0,90

Comparación de métodos (n=100)	
Test x	ALAT (GPT) competidor
Test y	ALAT (GPT) FS de DiaSys
Pendiente	1,02
Intersección	1,74 U/L
Coefficiente de correlación	0,9999

** Actividad mensurable la más baja que se distingue de cero; Medio + 3 SD (n = 20) de un espécimen sin analito.

Sin P-5-P

Rango de medición en equipos automatizados hasta 600 U/L. En procedimiento manual, actividades de ALAT hasta $\Delta A/\text{min}$. de 0,16 a 340 y 334 nm ó de 0,08 a 365 nm.	
Cuando los valores exceden este rango, diluir las muestras 1 + 9 con solución NaCl (9 g/L) y multiplicar el resultado por 10.	
Límite de prueba***	0,6 U/L

Sustancia interferente	Interferencias $\leq 10\%$ hasta
Ácido ascórbico	30 mg/dL
Bilirrubina (conjugada)	60 mg/dL
Bilirrubina (no conjugada)	55 mg/dL
Hemoglobina	500 mg/dL
Lipemia (Triglicéridos)	400 mg/dL

Para más información sobre interferencias, véase Young DS [6].

Precisión			
En la serie (n=20)	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Valor medio [U/L]	34,5	82,4	191
CV [%]	1,54	1,23	0,85
De un día a otro (n=20)	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Valor medio [U/L]	34,5	81,3	195
CV [%]	1,57	0,85	0,66

Comparación de métodos (n=100)	
Test x	ALAT (GPT) competidor
Test y	ALAT (GPT) FS de DiaSys
Pendiente	1,00
Intersección	-0,60 U/L
Coeficiente de correlación	0,9997

*** Actividad mensurable la más baja que se distingue de cero; Medio + 3 SD (n = 20) de un espécimen sin analito.

Valores de Referencia

Con P-5-P			
Mujeres [7]		< 34 U/L	< 0,57 µkat/L
Hombres [7]		< 45 U/L	< 0,75 µkat/L
Niños [1]	1 – 30 día(s)	< 25 U/L	< 0,42 µkat/L
	2 – 12 meses	< 35 U/L	< 0,85 µkat/L
	1 – 3 año(s)	< 30 U/L	< 0,50 µkat/L
	4 – 6 años	< 25 U/L	< 0,42 µkat/L
	7 – 9 años	< 25 U/L	< 0,42 µkat/L
	10 – 18 años	< 30 U/L	< 0,50 µkat/L
Sin P-5-P			
Mujeres [8,9]		< 31 U/L	< 0,52 µkat/L
Hombres [8,9]		< 41 U/L	< 0,68 µkat/L

Cada laboratorio debe comprobar si los valores de referencia indicados son adecuados para sus pacientes y si es necesario, 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. Bergmeyer HU, Horder M, Rej R. Approved Recommendation (1985) on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes. L.Clin. Chem. Clin. Biochem 1986; 24: 481-495.
4. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. ClinChemLabMed 2007;45(9):1240-1243.
5. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; 14-5.
6. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
7. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Féraud G et al. IFCC primary reference procedure for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 4: Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alanine aminotransferase. Clin Chem Lab Med 2002;40:718-24.
8. Lorentz K, Röhle G, Siekmann L. Einführung der neuen Standardmethoden 1994 zur Bestimmung der katalytischen Enzymkonzentrationen bei 37 °C. DG Klinische Chemie Mitteilungen 1995; Heft 4.
9. Zawta B, Klein G, Bablok W. Temperature Conversion in Clinical Enzymology? Klin. Lab. 1994; 40: 33-42.



DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Alemania
www.diasys-diagnostics.com

* Fluid Stable = Líquido Estable