

GPT MonlabTest®

NADH. Cinético UV. IFCC rec. Líquido

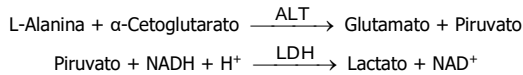


Determinación cuantitativa de alanina aminotransferasa (GPT/ALT)

Para uso profesional de diagnóstico *in vitro*. Conservar a 2-8°C.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La alanina aminotransferasa (ALT) inicialmente llamada transaminasa glutámico pirúvica (GPT) cataliza la transferencia reversible de un grupo amino de la alanina al α -cetoglutarato con formación de glutamato y piruvato. El piruvato producido es reducido a lactato en presencia de lactato deshidrogenasa (LDH) y NADH:



La velocidad de disminución de la concentración de NADH en el medio, determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de ALT en la muestra ensayada¹.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La ALT es una enzima intracelular, se encuentra principalmente en las células del hígado y el riñón.

Su mejor aplicación es en el diagnóstico de las enfermedades del hígado.

Se observan niveles elevados en enfermedades hepáticas como la hepatitis, enfermedades de los músculos y traumatismos.

Cuando se emplean en conjunción con la AST ayuda en el diagnóstico de infartos de miocardio, ya que el valor de la ALT se mantiene dentro de los límites normales y aumenta en los niveles de AST^{1,4,5}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

| | | |
|-----------------|------------------------------|-------------|
| R1 Tampón | TRIS pH 7,8 | 100 mmol/L |
| | Lactato deshidrogenasa (LDH) | 1200 U/L |
| R2 Substrato | L-Alanina | 500 mmol/L |
| | NADH | 0,18 mmol/L |
| | α -Cetoglutarato | 15 mmol/L |

PRECAUCIONES

R1: EUH210-Puede solicitarse la ficha de datos de seguridad.

Contiene azida sódica que puede reaccionar con las tuberías de plomo y cobre, y formar azidas potencialmente explosivas. Al deshacerse de esta clase de reactivos, verterlos por el desagüe junto con grandes cantidades de agua para evitar la acumulación de azida.

Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT):

Mezclar: 4 vol. (R1) Tampón + 1 vol. de (R2) Substrato.

Estabilidad: 21 días a 2-8°C o 72 horas a temperatura ambiente (15-25°C).

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia del blanco a 340 nm < 1,00.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 340 nm.
- Baño termostático a 25°C, 30°C o 37°C (\pm 0,1°C).
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma¹. Estabilidad de la muestra: 7 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
 - Longitud de onda: 340 nm
 - Cubeta: 1 cm paso de luz
 - Temperatura constante: 25°C / 30°C / 37°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.
- Pipetear en una cubeta:

| | |
|--------------------|-----|
| RT (mL) | 1,0 |
| Muestra (μ L) | 100 |
- Mezclar, incubar 1 minuto.
- Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronómetro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos.
- Calcular el promedio de la diferencia de absorbancia por minuto (ΔA /min).

CÁLCULOS

ΔA /min x 1750 = U/L de ALT

Unidades: La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1 μ mol de sustrato por minuto, en condiciones estándar. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).

Factores de conversión de temperaturas

Los resultados pueden transformarse a otras temperaturas multiplicando por:

| Temperatura de medición | Factor para convertir a | | |
|-------------------------|-------------------------|------|------|
| | 25°C | 30°C | 37°C |
| 25°C | 1,00 | 1,32 | 1,82 |
| 30°C | 0,76 | 1,00 | 1,39 |
| 37°C | 0,55 | 0,72 | 1,00 |

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

CONTROL Normal y Patológico (MO-165107 y MO-165108).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA^{4,5}

| | 25°C | 30°C | 37°C |
|---------|--------------|--------|--------|
| Hombres | Hasta 22 U/L | 29 U/L | 40 U/L |
| Mujeres | Hasta 18 U/L | 22 U/L | 32 U/L |

En recién nacidos normales se han descrito valores de referencia hasta el doble del de los adultos, debido a su inmadurez hepática, estos valores se normalizan aproximadamente a los tres meses.

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección 0 U/L hasta el límite de linealidad 400 U/L.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/10 con NaCl 9 g/L y multiplicar el resultado final por 10.

Precisión:

| | Intraserie (n= 20) | | Interserie (n= 20) | |
|-------------|--------------------|------|--------------------|------|
| Media (U/L) | 42,0 | 116 | 41,1 | 115 |
| SD | 0,47 | 0,42 | 0,76 | 1,61 |
| CV (%) | 1,11 | 0,36 | 1,85 | 1,40 |

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,00052 ΔA / min.

Exactitud: Los reactivos MonlabTest (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de regresión (r^2): 0,99597.

Ecuación de la recta de regresión: $y=1,1209x + 1,390$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Los anticoagulantes de uso corriente como la heparina, EDTA oxalato o fluoruro no afectan los resultados. La hemólisis interfiere con la determinación¹.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la ALT^{2,3}.

NOTAS

MONLAB dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- Murray R. Alanine aminotransferase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1088-1090.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.
- Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. AACC 1999.
- Tietz N. W. et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC 1995.

PRESENTACIÓN

| MO-165067 | MO-165068 | MO-165213 |
|---------------|----------------|----------------|
| R1: 1 x 60 mL | R1: 1 x 240 mL | R1: 4 x 100 mL |
| R2: 1 x 15 mL | R2: 1 x 60 mL | R2: 1 x 100 mL |

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA COMPONENTES Y REACTIVOS IVD

| | | | |
|--|-----------------------------------|--|------------------------------------|
| | Fabricante | | Uso de diagnóstico <i>in vitro</i> |
| | No reutilizar | | Consultar las instrucciones de uso |
| | Contiene suficiente para <n> test | | Mantener seco |
| | Código | | Límite de temperatura |
| | Número de lote | | Fecha de caducidad |



GPT MonlabTest®

NADH. Kinetic UV. IFCC rec. Liquid.

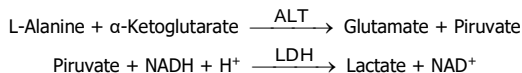


Quantitative determination of alanine aminotransferase GPT (ALT)

Only for professional *in vitro* diagnostic use. Store at 2-8°C.

PRINCIPLE OF THE METHOD

Alanine aminotransferase (ALT) or Glutamate pyruvate transaminase (GPT) catalyses the reversible transfer of an amino group from alanine to α -ketoglutarate forming glutamate and piruvate. The piruvate produced is reduced to lactate by lactate dehydrogenase (LDH) and NADH:



The rate of decrease in concentration of NADH, measured photometrically, is proportional to the catalytic concentration of ALT present in the sample¹.

CLINICAL SIGNIFICANCE

The ALT is a cellular enzyme, found in highest concentration in liver and kidney. High levels are observed in hepatic disease like hepatitis, diseases of muscles and traumatism, its better application is in the diagnosis of the diseases of the liver.

When they are used in conjunction with AST aid in the diagnosis of infarcts in the myocardium, since the value of the ALT stays within the normal limits in the presence of elevated levels of AST^{1,4,5}.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

| | | |
|-----------------|-----------------------------|-------------|
| R1 Buffer | TRIS pH 7.8 | 100 mmol/L |
| | Lactate dehydrogenase (LDH) | 1200 U/L |
| R2 Substrate | L-Alanine | 500 mmol/L |
| | NADH | 0.18 mmol/L |
| | α -Ketoglutarate | 15 mmol/L |

PRECAUTIONS

R1: EUH210-Safety data sheet available on request.
Contains sodium azide which can react with lead and copper plumbing, to form potentially explosive azides. When disposing of such reagents, flush with large volumes of water to prevent azide build up.
Follow the precautionary statements given in MSDS and label of the product.

PREPARATION

Working reagent (WR):
Mix: 4 vol. (R1) Buffer + 1 vol. (R2) Substrate
Stability: 21 days at 2-8°C or 72 hours at room temperature (15-25°C).

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date.

Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 340 nm < 1.00.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 340 nm.
- Thermostatic bath at 25°C, 30°C or 37°C ($\pm 0.1^\circ\text{C}$).
- Matched cuvettes 1.0 cm light path.
- General laboratory equipment.

SAMPLES

Serum or plasma¹: Stability 7 days at 2-8°C.

PROCEDURE

- Assay conditions:
Wavelength: 340 nm
Cuvette: 1 cm light path
Constant temperature: 25°C / 30°C / 37°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water or air.
- Pipette into a cuvette:

| | |
|--------------------------|-----|
| WR (mL) | 1.0 |
| Sample (μL) | 100 |
- Mix, incubate for 1 minute.
- Read initial absorbance (A) of the sample, start the stopwatch and read absorbances at 1 minute intervals thereafter for 3 minutes.
- Calculate the difference between absorbances and the average absorbance differences per minute ($\Delta A/\text{min}$).

CALCULATIONS

$\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{U/L of ALT}$

Units: One international unit (IU) is the amount of enzyme that transforms 1 μmol of substrate per minute, in standard conditions. The concentration is expressed in units per liter of sample (U/L).

Temperature conversion factors

To correct results to other temperatures multiply by:

| Assay temperature | Conversion factor to | | |
|-------------------|----------------------|------|------|
| | 25°C | 30°C | 37°C |
| 25°C | 1.00 | 1.32 | 1.82 |
| 30°C | 0.76 | 1.00 | 1.39 |
| 37°C | 0.55 | 0.72 | 1.00 |

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures:

CONTROL Normal and Pathologic (MO-165107 and MO-165108).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and technique for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES^{4,5}

| | 25°C | 30°C | 37°C |
|-------|--------------|--------|--------|
| Men | up to 22 U/L | 29 U/L | 40 U/L |
| Women | up to 18 U/L | 22 U/L | 32 U/L |

Normal newborns have been reported to show a reference range of up to double the adult, attributed to the neonate's hepatocytes. These values decline to adult levels by approximately 3 months of age.

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: From detection limit of 0 U/L to linearity limit of 400 U/L.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/10 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 10.

Precision:

| | Intra-assay (n=20) | | Inter-assay (n=20) | |
|------------|--------------------|------|--------------------|------|
| Mean (U/L) | 42.0 | 116 | 41.1 | 115 |
| SD | 0.47 | 0.42 | 0.76 | 1.61 |
| CV (%) | 1.11 | 0.36 | 1.85 | 1.40 |

Sensitivity: 1 U/L = 0,00052 $\Delta A / \text{min}$.

Accuracy: Results obtained using MonlabTest reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).

The results obtained using 50 samples were the following:

Correlation coefficient (r)²: 0.99597.

Regression equation: $y = 1.1209x + 1.390$.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES

Anticoagulants currently in use like heparin, EDTA, oxalate and fluoride do not affect the results. Hemolysis interferes with the assay¹.

A list of drugs and other interfering substances with ALT determination has been reported^{2,3}.

NOTES

MONLAB has instruction sheets for several automatic analyzers.

BIBLIOGRAPHY

- Murray R. Alanine aminotransferase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1088-1090.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PACKAGING

| MO-165067 | MO-165068 | MO-165213 |
|---------------|----------------|----------------|
| R1: 1 x 60 mL | R1: 1 x 240 mL | R1: 4 x 100 mL |
| R2: 1 x 15 mL | R2: 1 x 60 mL | R2: 1 x 100 mL |

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS

| | | | |
|--|-----------------------------------|--|---|
| | Manufacturer | | For <i>in vitro</i> diagnostic use only |
| | Don't re-use | | Consult instructions for use |
| | Contains sufficient for <n> tests | | Keep dry |
| | Catalogue Code | | Temperature limitation |
| | Lot Number | | Use by |