



valtek

diagnostics

ALAT/ALT/GPT (IFCC)

Reactivo líquido para la determinación fotométrica de la enzima Transaminasa Glutámico Pirúvica (Alanina Aminotransferasa) en suero.

Para uso en el diagnóstico *in Vitro*. Apto para usar en autoanalizador.

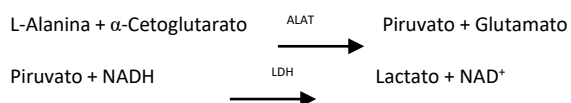
SIGNIFICANCIA CLINICA

La ALAT se encuentra en altas concentraciones en el hígado, riñón, corazón y tejido muscular esquelético.

Su nivel se encuentra aumentado en enfermedades que involucran el hígado (cirrosis, hepatitis viral, entre otras). Niveles bajos se detectan en pacientes dializados o con deficiencia de vitamina B6.

FUNDAMENTOS DEL METODO

La determinación de ALAT se realiza acoplado su acción transaminasa a la acción de la enzima LDH en presencia de NADH. Este método se basa en el método de Wroblewski y La Due, siguiendo las recomendaciones de IFCC y SSCC.



La L-alanina reacciona en presencia de ALAT formándose Piruvato y Glutamato. El Piruvato producido es reducido por la enzima LDH con la consiguiente oxidación del NADH a NAD.

La actividad de la ALAT se mide determinando la disminución de absorbancia a 340 nm. según el NADH sea oxidado a NAD⁺.

REACTIVOS

Conservados entre 2° y 8°C. y protegidos de la luz, estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Composición Reactivo 1:

| | |
|---------------------|-----------|
| Buffer pH 7.5 ± 0.1 | 120 mM |
| α-Cetoglutarato | 18 mM |
| L-Alanina | 600 mM |
| LDH | ≥2500 U/L |
| Azida | 0.3% |

Composición Reactivo 2:

| | |
|-----------------|--------|
| NADH | 1.5 mM |
| Estabilizadores | c.s. |

Preparación del Reactivo de Trabajo:

Mezclar 1 mL de Reactivo 1 con 0.2 mL de Reactivo 2 o preparar el volumen requerido manteniendo la proporción.

Estabilidad del reactivo de trabajo: 10 días entre 2° y 8°C. Se debe conservar tapado cuando no están en uso.

Descartar el reactivo si su absorbancia es menor de 0.8 OD a 340 nm. contra blanco de agua.

MUESTRA

De preferencia utilizar suero libre de hemólisis. Descartar muestras con hemólisis visible ya que se pueden obtener valores falsamente elevados. Se recomienda hacer la determinación tan pronto sea posible. La ALAT es estable a lo menos 3 días entre 2° y 8°C. y 30 días a -20°C.

MATERIAL NECESARIO NO INCLUIDO

Espectrofotómetro manual o automático o fotocolorímetro de filtros con cubeta termoestable, capaz de medir absorbancia a 340 nm., baño termoregulado, cronómetro, pipetas, calibrador y sueros controles.

TECNICA

Llevar el reactivo a la temperatura de reacción (30° o 37°C.).

Ajustar el espectrofotómetro a cero con blanco de agua destilada.

| | | |
|--|------|-----|
| Reactivo de trabajo | (mL) | 1.0 |
| Volumen de muestra | (mL) | 0.1 |
| Mezclar y transferir a la cubeta del espectrofotómetro. Incubar 60 segundos a la temperatura de reacción. Leer la absorbancia inicial (A1) a 340 nm. Repetir la lectura a intervalos de 60 segundos exactos, hasta por tres minutos. | | |

Adaptaciones para la aplicación de este reactivo en autoanalizadores están disponibles a solicitud. Es responsabilidad del laboratorio validar esta aplicación. Los reactivos deben permanecer cerrados cuando no están en uso.

CALIBRACION

- En la calibración se recomienda utilizar calibrador sérico VALTROL-C II (código 210-130A), proceder de igual forma que con las muestras.
- Se recomienda recalibrar en cualquier momento que se evidencie alguno de estos acontecimientos:
 - El lote de reactivo cambia
 - Se realiza un mantenimiento preventivo del equipo
 - Los valores de control han cambiado o se encuentran fuera de escala.

CALCULOS

Determine el cambio de Absorbancia por minuto (ΔA/min) tanto para el calibrador como para las muestras.

| |
|---|
| Factor = $\frac{\text{Concentración Calibrador}}{\Delta A/\text{min Calibrador}}$ |
| Actividad ALAT (UI/L) = Factor x ΔA/min. muestra |

O bien se puede utilizar el siguiente factor:

| |
|---|
| Actividad ALAT desconocido (UI/L) = ΔA/min x 1768 |
|---|

$$\text{Factor } 1768 = \frac{V_t \times 1000}{\sum \text{NADH } 340 \times P \times V_m}$$

Vt = Volumen total de reacción

∑NADH 340 = Coef. de extinción milimolar del NADH a 340 nm.

P = Espesor del paso de luz en la cubeta

Vm = Volumen de muestra utilizado

CONTROL DE CALIDAD

- Es conveniente analizar junto con las muestras sueros controles valorados para ALAT por este método. Se recomienda la utilización de los sueros controles VALTROL-N y VALTROL-P (código 210-120 o kit Multivaltrol código 210-300)
- El factor podría variar en autoanalizadores por diferencia en el espesor de paso de luz. En este caso es indispensable utilizar un calibrador sérico compatible con esta metodología de análisis.
- Si los valores obtenidos para los controles se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.
- Cada laboratorio debe disponer de su propio Control de Calidad y establecer las correcciones necesarias en caso de que no se cumpla con las tolerancias permitidas para los controles.

ADVERTENCIAS Y MEDIDAS DE PRECAUCION:

- Mantener los reactivos cerrados cuando no están en uso aumenta la estabilidad de la calibración.
- Los volúmenes indicados pueden ser alterados proporcionalmente sin alterar los resultados.
- Los rangos normales deben informarse de acuerdo a la temperatura a la cual se realiza el ensayo.
- Consultar en nuestra página WEB la ficha de seguridad de este reactivo y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación y eliminación de residuos.
- Contiene Azida de Sodio 0.05% (Nº CAS 26628-22-8) No peligroso a esta concentración. No ingerir. En contacto con metales pesados, como tuberías de cobre o plomo, podría formar azida metal que es explosiva, elimine los residuos con grandes volúmenes de agua y/o de conformidad con las regulaciones locales.
- Debe utilizarse contenedores de reactivos de autoanalizadores nuevos.
- Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.
- El Hipoclorito de Sodio a una concentración ≥ 10 mg/dL tiene un fuerte efecto interferente sobre la estabilidad del reactivo, por lo que todo el material utilizado debe estar LIBRE de residuos de Hipoclorito para garantizar el resultado obtenido.

ESPECIFICACIONES DE DESEMPEÑO:

-Linealidad: 900 U/L.

Para valores superiores a 900 U/L, diluir la muestra con suero fisiológico y el resultado obtenido se multiplica por el factor de dilución.

-Límite de detección: 1,80 U/L.

-Interferencias: Hemólisis, bilirrubina sobre 20 mg/dL y la lipemia (triglicéridos sobre 200 mg/dL) podrían interferir en la técnica. Otros medicamentos y sustancias podrían interferir (4).

-Exactitud: Los reactivos VALTEK cumplen con los parámetros CLIA establecidos.

- CV% Repetibilidad: n=20

| <u>Nivel</u> | <u>Media(U/L)</u> | <u>C.V.</u> |
|--------------|-------------------|-------------|
| Nivel 1 | 35 | 1.8% |
| Nivel 2 | 150 | 2.4% |
| Nivel 3 | 147 | 2.0% |

-CV% Intralaboratorio: n=20

| <u>Nivel</u> | <u>Media(U/L)</u> | <u>C.V.</u> |
|--------------|-------------------|-------------|
| Nivel 1 | 35 | 2.9% |
| Nivel 2 | 150 | 5.3% |
| Nivel 3 | 147 | 6.1% |

Estos datos han sido obtenidos utilizando un autoanalizador MINDRAY de la serie BS. Los resultados pueden variar al cambiar de instrumento o al realizar el procedimiento manualmente.

RANGOS DE REFERENCIA

Cada laboratorio debe establecer sus propios rangos de referencia en función de la población de pacientes. Los rangos de referencia que se enumeran a continuación están tomados de la bibliografía existente.

Suero: hasta 24 UI/L a 30°C.

Suero: hasta 36 UI/L a 37°C.

PRESENTACIONES DISPONIBLES

| CODIGO | CONTENIDO |
|---------|----------------------|
| 170-150 | Reactivo 1 3 x 50 mL |
| | Reactivo 2 1 x 31 mL |
| 300200 | Reactivo 1 4 x 40 mL |
| | Reactivo 2 2 x 16 mL |
| 200200 | Reactivo 1 4 x 40 mL |
| | Reactivo 2 2 x 16 mL |

BIBLIOGRAFIA

1. Tietz, N!W. (ed) Fundamentals of Clinical Chemistry W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1976.
2. Henry, R.J., Clinical Chemistry, Principles and Technics. Harper and Row Publishers. New York, 1964.
3. Provisional Recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Clin Chem 23(887), 1977
4. Young D.S., effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.

REV N° 4 05/2022 C.V.