

REF 10205-4 4 X 31 mL / 7 mL

ALANINA-AMINOTRANSFERASA (ALT)

Cada compartimiento contiene una cantidad utilizable de 31 mL de reactivo R1; el frasco de 10 mL contiene 7 mL de reactivo R2.

USO PREVISTO

El reactivo de ALT EasyRA se utiliza para la determinación cuantitativa de la actividad de la alanina aminotransferasa en suero y plasma humanos (con heparina de litio como anticoagulante), mediante el "Analizador de química clínica MEDICA EasyRA" en laboratorios clínicos.

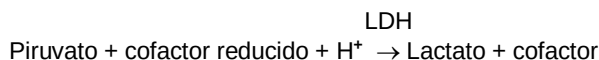
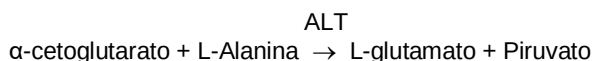
Utilizar únicamente para diagnóstico *in-vitro*. Solo para uso profesional.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La alanina aminotransferasa es una enzima intracelular relacionada con el metabolismo de aminoácidos y carbohidratos y es liberada cuando hay daño tisular. Los valores de alanina aminotransferasa se utilizan en el diagnóstico y tratamiento de algunas enfermedades hepáticas (por ejemplo: hepatitis viral y cirrosis). En la necrosis hepática, el aumento de los valores de ALT sucede antes que la aparición de ictericia.¹

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Este método se basa en los procedimientos de Wroblewski and Ladue², los cuales se basan en la oxidación de NADH por la lactato deshidrogenasa. El reactivo se basa en las modificaciones de la IFCC³ (Federación Internacional de Química Clínica) y en los métodos de Bergmeyer.⁴



La tasa de reducción en absorbancia de la mezcla de reacción a 340 nm, debido a la oxidación del cofactor reducido, es directamente proporcional a la actividad de ALT en la muestra.

REACTIVOS

Reactivo buffer ALT (R1):

L-Alanina	500 mmol/L
LDH (músculo de conejo)	1200 U/L
Buffer Tris, pH 7,5	100 mmol/L

Reactivo sustrato ALT (R2):

á-cetoglutarato	15 mmol/L
NADH, sal disódica	0,18 mmol/L

Ingredientes no reactivos

Buffers, estabilizadores y conservante.

PRECAUCIONES

1. Se deben seguir buenas practicas de seguridad en el laboratorio cuando se manipula cualquier reactivo. (CLSI, GP17-A2).
2. Los reactivos contienen menos de 0,1% de azida sódica que puede reaccionar al entrar en contacto con tubos de plomo y cobre y formar azidas de metal altamente explosivas. Consulte la hoja de datos de seguridad para obtener información sobre los riesgos, el peligro y la seguridad.
3. Como en todos los casos de procedimientos de análisis de diagnóstico, los resultados se deben interpretar teniendo en cuenta todos los otros resultados de los análisis y el estado clínico del paciente.
4. No utilice cubetas lavadas.

INSTRUCCIONES PARA LA MANIPULACIÓN, EL ALMACENAMIENTO Y LA ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Mezcle los reactivos R1 y R2 en el compartimiento antes de utilizarlos. Los reactivos que no fueron abiertos son estables hasta la fecha de vencimiento indicada en la etiqueta si se almacenan a 2 – 8 °C. El reactivo de trabajo es estable una vez cargado en el área refrigerada para reactivos del Analizador EasyRA (EasyRA Analyzer) por la cantidad de días programados en el chip RFID que se encuentra en el compartimiento del reactivo. No use el reactivo si se encuentra turbio o nebuloso o si no logra obtener valores de control de suero conocidos.

RECOLECCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA/ESTABILIDAD

Los tubos recubiertos con heparina de litio pueden utilizarse para la recolección de plasma. Se deben utilizar muestras claras y no hemolizadas. El ALT en suero permanece estable durante 24 horas a 18 – 25 °C y durante 7 días a 2 – 8 °C.⁵

Limitaciones y aditivos de interferencia para tubos de recolección.

Evitar la hemólisis, ya que la concentración de ALT en los glóbulos rojos es aproximadamente 3 - 5 veces más que en la del suero.⁶

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados

Compartimiento de reactivo ALT (Medica ALT Reagent Wedge) y botella de R2, REF 10205

Materiales adicionales necesarios

Medica EasyQC® Chemistry/Electrolytes – Nivel A, REF 10793

Medica EasyQC Chemistry/Electrolytes – Nivel B, REF 10794

Método de diagnóstico Dye Test – Medica Precision Test Dye Wedge, REF 10764

Medica Cleaner Wedge – Chemistry & ISE, REF 10660 o

Medica Cleaner Wedge – Chemistry, REF 10661

Instrucciones de uso

Mezcle los reactivos R1 y R2 en el compartimiento antes de utilizarlos. El reactivo R1 se encuentra en el compartimiento. Agregue todo el contenido de la botellita que contiene el reactivo R2 al compartimiento y mezcle bien por inversión antes de usar. Habrá un total de 38 mL de reactivo de trabajo para usar después de la mezcla. Retire la tapa del reactivo de trabajo y coloque el reactivo en la bandeja para el reactivo del Analizador EasyRA ubicada en el área de los reactivos. Una vez en el compartimiento, la estabilidad del reactivo (máximo 44 días) se programa en el chip RFID del compartimiento de reactivos.

Nota: verifique que no haya espuma en la parte interna del cuello del compartimiento después de retirar la tapa y colocar el compartimiento en el analizador. Si encuentra espuma, retírela con un hisopo o una pipeta desechable antes de realizar el análisis.

Calibración

No corresponde.

Control de calidad

Se recomienda llevar a cabo dos niveles de control del suero humano (normal y anormal) en el ensayo todos los días cuando se realiza la prueba en el paciente y con cada cambio de lote del reactivo. Si en el ensayo del material de control no se obtienen los rangos de valores correctos, esto es indicador de deterioro del reactivo, un mal funcionamiento del instrumento o errores de procedimiento. Cuando se utilizan materiales de control de calidad, el laboratorio debe cumplir con las normas de control de calidad locales, estatales y federales.

Resultados

Al finalizar el ensayo, el Analizador EasyRA calcula la concentración de ALT a partir de la variación de absorbancia por minuto, el volumen de la muestra, el volumen de reacción total, la longitud de trayectoria (cm.) de 0,6 y la absorptividad molar de 6,22.

$$\text{ALT (U/L)} = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{Volumen Total } (\mu\text{L}) \times 1000)}{(\text{Absortividad molar} \times \text{Pasode Luz (cm)} \times \text{Volumen de la Muestra } (\mu\text{L}))}$$

Valores esperados⁵

El rango de referencia para la ALT en suero es el siguiente:

Masculino Adulto:	10 - 40 U/L
Femenino Adulto:	7 - 35 U/L
Recién nacido:	13 - 45 U/L

Estos valores son solamente como referencia. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de valores debido a las diferencias que existen entre los instrumentos, los laboratorios y la población local.

Limitaciones en los procedimientos (por ejemplo: si la muestra está por encima del rango del ensayo)

Sólo se deben utilizar muestras de suero no hemolizado.

Si la variación de absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{Min}$) es superior a 0,032, que corresponde a 500 U/L, los resultados se marcarán como "SD" (depleción de sustrato). Si el operador selecciona el icono "Re-run", se puede volver a probar la muestra usando la mitad (1/2) del volumen de muestra. Los resultados de los análisis repetidos se calculan para que reflejen el uso de un volumen inferior de muestra. Esto aumentará el rango a reportar del análisis de ALT a 1000 U/L.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO⁷

Rango a reportar

El rango a reportar es de 5,0 hasta 500 U/L. El rango extendido es de 5,0 hasta 1000 U/L cuando se utiliza la mitad de la muestra (dilución 1:1).

Inexactitud/Correlación (CLSI, EP9-A2)

La tabla que se encuentra a continuación detalla los datos obtenidos en una comparación sobre el rendimiento del nuevo reactivo Medica para ALT (y) en el Analizador EasyRA, con un reactivo para ALT (x) anterior en el Analizador EasyRA. Los datos que se muestran a continuación representan determinaciones únicas con el nuevo reactivo Medica para ALT en el Analizador EasyRA vs. el promedio de dos valores replicados obtenidos con el reactivo Medica para ALT anterior en el Analizador EasyRA.

Número de muestras	80	Rango de muestras	11,5 hasta 455,1 U/L.
Pendiente	1,0239	Intercepto con y	-0,8187
Coefficiente de correlación	0,9996	Ecuación de regresión:	$Y = 1,0239 \cdot X - 0,8187$

La tabla que se encuentra a continuación detalla los datos obtenidos en una comparación de las muestras de suero pareado (x) y plasma (y) con el reactivo Medica para ALT en el Analizador químico Medica EasyRA. Los datos que se muestran a continuación representan una determinación única de plasma vs. el promedio de dos valores de suero replicados.

Número de muestras	60	Rango de muestras	7,6 hasta 449,3 U/L.
Pendiente	1,0027	Intercepto con y	-0,4762
Coefficiente de correlación	0,9992	Ecuación de regresión:	$Y = 1,0027 \cdot X - 0,4762$

Imprecisión (CLSI, EP5-A2).

Las medidas duplicadas de cada uno de los tres niveles del material de control de calidad se analizaron dos veces al día durante 20 días. Ambas ejecuciones de precisión están dentro de y la precisión total fue determinada de estos datos.

Dentro de la imprecisión corriente:

Nivel del control de calidad U/L	Dentro de la depleción de sustrato actual U/L	Dentro del CV %
205,2	1,91	0,93
90,7	1,52	1,68-
27,4	0,75	2,72

Imprecisión total:

Nivel del control de calidad U/L	Imprecisión total de depleción de sustrato U/L	Imprecisión total del CV %
205,2	3,02	1,47
90,7	1,95	2,16
27,4	1,00	3,65

Linealidad (CLSI, EP6-A)

Lineal desde 5,0 a 500 U/L, con base en la ecuación de regresión lineal $Y = 0,998 \cdot X + 1,2333$.

Límite del blanco (LOB):	2,4 U/L	(NCCLS, EP17-A)
Límite de detección (LOD):	4,2 U/L	(NCCLS, EP17-A)

Sustancias de interferencia (NCCLS, EP7-A)

Menos del 10% de interferencia fue clasificado como "interferencia no significativa".

Existe una interferencia significativa desde la hemólisis. Se debe evitar la hemólisis, ya que la concentración de AST en los glóbulos rojos es aproximadamente 5 veces más que en la del suero. No use muestras hemolizadas.

No se encontraron interferencias significativas en niveles de hasta 28 mg/dL de bilirrubina.

No se encontraron interferencias significativas en niveles de hasta 1500 mg/dl de triglicéridos (con Intralipid*).

*Intralipid es una marca registrada de Pharmacia AB, Clayton, NC

Young provee una lista de drogas y otras sustancias que interfieren con los análisis de química clínica.^{8,9}

REFERENCIAS

- 1 Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd ed. Philadelphia, PA. WB Saunders Co.; 1994. 790-791.
- 2 Wroblewski, F. y LaDue, J.S., Proc. Soc. Exper. Biol. And Med. 91. 569, 1956.
- 3 International Federation of Clinical Chemistry, Provisional Concentrations of Enzymes, Clin Chem 23. 887, 1977.

- 4 Bergmeyer HU, Scheibe P, Wahlefeld, AW. Optimization of methods for aspartate aminotransferase and alanine aminotrasferase. Clin Chem 24. 58, 1978.
- 5 Burtis, C.A., Ashwood, E.R. (Ed.) *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, W.B. Saunders Co. Toronto, p 1800 (1999).
- 6 Henry R.J. *Clinical Chemistry-Principles and Technics*. New York, NY: Harper & Row; 1974: 881, 888.
- 7 Datos de los archivos de Medica Corporation.
- 8 Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4th ed. Washington, DC. AACC Press, 1995.
- 9 Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC. AACC Press, 1997

Parámetros del ensayo (ALT) EasyRA

Longitud de onda (nm)	340/405 nm
Tipo de reacción	Enzima (0)
Dirección del reactivo	Disminución
Blanco del reactivo	No
Blanco de la muestra	No
Variación máxima del primer intervalo de absorbancia	0,032
Tiempo de reacción	5,6 min.
Intervalo de calibración (máximo)	N/A
Estabilidad integrada del reactivo	44 días

Suero/Plasma

Volumen de la muestra (µl)	8,0
Volumen del diluyente (µl)	32
Volumen del reactivo (µl)	152
Puntos decimales (predeterminado)	1
Unidades (valores predeterminados)	U/L
Factor de dilución	1:1 (para extender el rango de medición)
Linealidad	5,0 hasta 500 U/L
Absortividad molar	6,22



Medica Corporation, 5 Oak Park Drive
Bedford, MA 01730-1413 USA



Emergo Europe, Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague, The Netherlands