

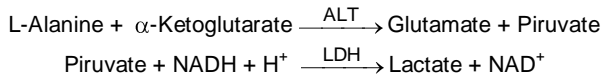
**Quantitative determination of alanine aminotransferase GPT (ALT) IVD**

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  $\alpha$ -ketoglutarate forming glutamate and pyruvate.

The pyruvate 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 sample<sup>1</sup>.

**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<sup>1,4,5</sup>.

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

**REAGENTS**

<b>R 1</b> Buffer	TRIS pH 7.8	100 mmol/L
	Lactate dehydrogenase (LDH)	1200 U/L
	L-Alanine	500 mmol/L
<b>R 2</b> Substrate	NADH	0.18 mmol/L
	$\alpha$ -Ketoglutarate	15 mmol/L

**PREPARATION**

DUAL MODE: Ready to use.

MONO MODE: Pour reagent 2 content over reagent 1. Mix thoroughly avoiding foam forming and it will be ready to use (WR). Working reagent (WR) 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 ó 37° C ( $\pm$  0.1°C).
- Matched cuvettes 1.0 cm light path.
- General laboratory equipment.

**SAMPLES**

Serum or plasma<sup>1</sup>: Stability 7 days at 2-8°C.

**INTERFERENCES**

Anticoagulants currently in use like heparin, EDTA, oxalate and fluoride do not affect the results. Hemolysis interferes with the assay<sup>1</sup>.

A list of drugs and other interfering substances with ALT determination has been reported<sup>2,3</sup>.

**APPLICATION SPINLAB 180**

Name	GPT	Ref. male low	0 U/L
Abbr. Name	GPT	Ref. male high	40 U/L
Mode	Kinetic	Ref. female low	0 U/L
Wavelength	340 nm	Ref. female high	32 U/L
Units	U/L	Ref. Ped. Low	*
Decimals	0 U/L	Ref. Ped. High	*
Low Conc.	5 U/L	Panic value low	*
High Conc.	500 U/L	Panic value high	*
Calibrator name		Control 1	*
Prozone check	No	Control 2	*
		Control 3	*
		Correlat. factor	1.000
		Correlat. offset	0.000
<b>DUAL MODE</b>		<b>MONO MODE</b>	
Sample blank	No	Sample blank	No
R1 bottle (mL)	25 mL	R1 bottle (mL)	25 mL
normal volume	240 $\mu$ L	normal volume	300 $\mu$ L
rerun volume	240 $\mu$ L	rerun volume	300 $\mu$ L
Sample		Sample	
normal volume	30.0 $\mu$ L	normal volume	30.0 $\mu$ L
rerun volume	15.0 $\mu$ L	rerun volume	15.0 $\mu$ L
R2 bottle (mL)			
normal volume	60.0 $\mu$ L		
rerun volume	60.0 $\mu$ L		
Predilución	No		
Slope blank	No		
Delay, min. time	50, 186 sec.	Delay, min. time	51, 175 sec.
Linearity limit	10.0 %	Linearity limit	10.0 %
Factor	-1746	Factor	-1746
Reagent blank	No	Reagent blank	No
Low Absorbance	-0.100 Abs	Low Absorbance	-0.100 Abs
High Absorbance	3.000 Abs	High Absorbance	3.000 Abs
R. Abs. L. Limit	-0.100 Abs	R. Abs. L. Limit	-0.100 Abs
R. Abs. H. Limit	3.000 Abs	R. Abs. H. Limit	3.000 Abs
R. Abs. Deviation	3.000 Abs	R. Abs. Deviation	3.000 Abs

**QUALITY CONTROL**

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINTROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

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<sup>4,5</sup>**

	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.

**NOTES**

**SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.**

**BIBLIOGRAPHY**

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

**PACKAGING**

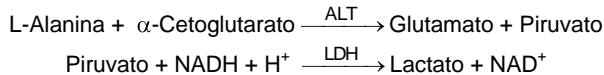
Ref. SP41274	Cont.	R 1:	10 x 20 mL
		R 2:	10 x 5 mL

**Determinación cuantitativa de alanina aminotransferasa GPT (ALT) IVD**

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  $\alpha$ -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 ensayada<sup>1</sup>.

**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<sup>1,4,5</sup>.

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

**REACTIVOS**

<b>R 1</b> Tampón	TRIS pH 7,8	100 mmol/L
	Lactato deshidrogenasa (LDH)	1200 U/L
	L-Alanina	500 mmol/L
<b>R 2</b> Substrato	NADH	0,18 mmol/L
	$\alpha$ -Cetoglutarato	15 mmol/L

**PREPARACIÓN**

MODO DUAL: Reactivos listos para el uso.

MODO MONO: Verter el contenido del reactivo 2 sobre el reactivo 1. Mezclar evitando la formación de espuma y quedará listo para usar (RT).

Estabilidad del reactivo de trabajo (RT): 21 días a 2-8°C o 72 horas a temperatura ambiente.

**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.
- Absorbancias del Blanco a 340 < 1,00.

**MATERIAL ADICIONAL**

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 340 nm.
- Baño termostatable a 25°C, 30°C ó 37°C ( $\pm 0,1^\circ\text{C}$ )
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

**MUESTRAS**

Suero o plasma<sup>1</sup>. Estabilidad de la muestra: 7 días a 2-8°C.

**INTERFERENCIAS**

Los anticoagulantes de uso corriente como la heparina, EDTA oxalato o fluoruro no afectan los resultados. La hemólisis interfiere con la determinación<sup>1</sup>. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la ALT<sup>2,3</sup>.

**APLICACIÓN AL SPINLAB 180**

Nombre	GPT	Ref. Hombre Inf.	0 U/L
Nombre abreviado	GPT	Ref. Hombre Sup.	40 U/L
Modo	Cinética	Ref. Mujer Inf.	0 U/L
Long. ondas	340 nm	Ref. Mujer Sup.	32 U/L
Unidades	U/L	Ref. Ped. Inf.	*
Decimales	0	Ref. Ped. Sup.	*
Conc. Inferior	5 U/L	Valor pánico bajo	*
Conc. Superior	500 U/L	Valor pánico alto	*
Calibrador		Control 1	*
Chequeo prozona	No	Control 2	*
		Control 3	*
		Factor correl.	1.000
		Offset de correl.	0.000
<b>MODO DUAL</b>		<b>MODO MONO</b>	
Blanco muestra	No	Blanco muestra	No
Frasco R1 (mL)	25 mL	Frasco R1 (mL)	25 mL
Vol. normal	240 $\mu\text{L}$	Vol. normal	300 $\mu\text{L}$
Vol. repet.	240 $\mu\text{L}$	Vol. repet.	300 $\mu\text{L}$
Muestra		Muestra	
Vol. normal	30.0 $\mu\text{L}$	Vol. normal	30.0 $\mu\text{L}$
Vol. repet.	15.0 $\mu\text{L}$	Vol. repet.	15.0 $\mu\text{L}$
Frasco R2 (mL)	5 mL		
Vol. normal	60.0 $\mu\text{L}$		
Vol. repet.	60.0 $\mu\text{L}$		
Predilución	No		
Pendiente Blco.	No		
Retr., tiempo min.	50, 186 sec.	Retr., tiempo min.	51, 175 sec.
Lim. Linealidad	10%	Lím. Linealidad	10 %
Factor	-1746	Factor	-1746
Blanco reactivo	No	Blanco reactivo	No
Absorbancia inf.	-0.100 Abs	Absorbancia inf.	-0.100 Abs
Absorbancia sup.	3.000 Abs	Absorbancia sup.	3.000 Abs
Lim. Inf. Abs. React.	-0.100 Abs	Lim. Inf. Abs. React.	-0.100 Abs
Lim. Sup. Abs. React.	3.000 Abs	Lim. Sup. Abs. React.	3.000 Abs
Desv. Abs. React.	3.000 Abs	Desv. Abs. React.	3.000 Abs

**CONTROL DE CALIDAD**

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

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**

	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.

**NOTAS**

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

**BIBLIOGRAFÍA**

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

**PRESENTACIÓN**

Ref. SP41274	Cont.	R 1: 10 x 20 mL
		R 2: 10 x 5 mL