



BIOLABO
www.biolabo.fr

FABRICANTE:
BIOLABO SA,
Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

Reactivo para la determinación cuantitativa de la actividad Alanina aminotransferasa (ALT) [EC 2.6.1.2] y Aspartato aminotransferasa (AST) [EC 2.6.1.1] en suero o plasma humano

AST GOT-ALT GPT

Método colorimétrico

TGO	REF 92025	R1 1 x 100 mL	R3 1 x 100 mL	R4 1 x 10 mL
TGP	REF 92027	R2 1 x 100 mL	R3 1 x 100 mL	R4 1 x 10 mL
	REF 92026	Solución NaOH 0,4 N		R1 1 x 500 mL (Venta al detalle)

CODIGO SFBC: DX

SOPORTE TECNICO Y PEDIDOS

Tel: (33) 03 23 25 15 50

Fax: (33) 03 23 256 256



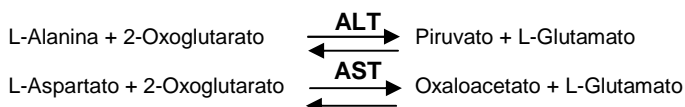
IVD USO IN VITRO

SIGNIFICACION CLINICA (1) (2)

El ALT se encuentra en grandes cantidades en los tejidos hepáticos y renales, y en menor medida en el músculo esquelético y cardíaco. Aunque la actividad ALT y AST aumenta en el suero sea cual sea el daño de las células hepáticas, el ALT es la enzima más específica. Un aumento importante de la actividad ALT en el suero o el plasma se observa raramente salvo en enfermedades hepáticas (cirrosis, carcinoma, hepatitis, ictericia por obstrucción biliar o congestión hepática). La elevación de la actividad ALT persiste más tiempo que la del AST. La medida conjunta de la actividad ALT y AST es interesante para diferenciar una hepatitis de otras lesiones parenquimatosas. El AST está presente en todos los tejidos del cuerpo, pero su actividad más importante se encuentra en el hígado, el corazón, los músculos esqueléticos y en los eritrocitos. En la piel, los riñones y el páncreas, se mide una actividad más baja. Aunque la actividad del AST y del ALT en el suero aumenta en todos los casos donde la integridad de las células hepáticas se afecta (hepatitis viral, necrosis hepática, cirrosis), un aumento de la actividad AST en el suero o el plasma aparece después de un infarto de miocardio en el 97% de los casos. Una actividad AST elevada (y ocasionalmente ALT) se puede encontrar en casos de distrofia muscular progresiva, embolia pulmonar, pancreatitis aguda...

PRINCIPIO (4)

Método colorimétrico desarrollado por Tonhazy, White, y Umbreit y adaptado a la prueba en suero por Reitman y Frankel. El esquema reaccional es el siguiente:



El Piruvato o el Oxaloacetato formados reaccionan con el 2, 4 DNP para formar su derivado 2, 4 Dinitrofenilhidrazona, que da en medio alcalino una coloración leible a 505 nm y proporcional a la actividad AST o ALT en el medio reaccional.

REACTIVOS

Vial R1	SUSTRATO GOT		
Tampón Fosfato pH 7,5	85 mmol/L	2-oxoglutarato	2 mmol/L
L-aspartato	200 mmol/L	Conservante	

Vial R2	SUSTRATO GPT		
Tampón Fosfato pH 7,5	100 mmol/L	2-oxoglutarato	2 mmol/L
L-alanina	200 mmol/L	Conservante	

Vial R3	REACTIVO COLORANTE
2,4-dinitrofenil-hidrazina (DNPH)	1 mmol/L
HCl	1 mol/L

Xi, R36/38: Irritante para los ojos y la piel.
S37/39: Llevar guantes adecuados y un aparato de protección para los ojos/la cara.

Vial R4	SOLUCION STANDARD	
Piruvato de sodio	2 mmol/L	Sodio merthiolato 0,1 %
Tampón Fosfato pH 7,5	100 mmol/L	Conservante

Xn, R20/21/22 : Nocivo por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión
S37/38: Llevar guantes adecuados. En caso de ventilación insuficiente, llevar un aparato respiratorio.

PRECAUCIONES

Los reactivos BIOLABO están destinados únicamente a profesionales, para uso in vitro.

- Verificar la integridad de los reactivos antes de su utilización.
- Utilizar equipamientos de protección (bata, guantes, gafas). No pipetear con la boca.
- En caso de contacto con la piel o los ojos, enjuagar abundantemente y consultar al médico.
- Los reactivos contienen azida de sodio (concentración < 0,1%) que puede reaccionar con metales como el cobre y el plomo de la tuberías. Enjuagar con abundancia.
- La ficha de datos de seguridad puede obtenerse por petición.
- Eliminación de los desechos: respetar la legislación en vigor. Por medida de seguridad, tratar toda muestra como potencialmente infecciosa. Respetar la legislación en vigor.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

Los reactivos están listos para el uso. Preparar una solución de sosa 0,4 N diluyendo 16 g de sosa en 1 litro de agua desmineralizada. Esta solución es irritante (Ver § PRECAUCIONES).

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Almacenar a 2-8°C, en el vial de origen bien cerrado y protegido de la luz

- Almacenados y utilizados en las condiciones adecuadas, en ausencia de contaminación, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Solución Standard (vial R4): transvasar la cantidad necesaria, tapar bien de nuevo y almacenar a 2-8°C

No utilizar los reactivos si están turbios o si el blanco reactivo medido a 505 nm > 0,400.

No utilizar los reactivos más allá de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la caja.

TOMA Y PREPARACION DE LA MUESTRA (2)

Suero o plasma heparinizado, no hemolizado.

La actividad ALT es estable en la muestra:

- 24 horas a temperatura ambiente.
- 7 días a 2-8°C.

La actividad AST es estable en la muestra:

- 24 horas a temperatura ambiente.
- 28 días a 2-8°C.
- por lo menos un año a -20°C.

El añadido de piridoxal fosfato (0.1 mM) permite aumentar la estabilidad del AST a temperatura ambiente a 7 días.

INTERFERENCIAS (3)

Hemólisis: Interferencia positiva en razón del contenido en AST y ALT de los eritrocitos. Young D.S. ha publicado una lista de las sustancias que interfieren con la prueba.

REACTIVOS Y MATERIAL COMPLEMENTARIOS

1. Equipamiento de base del laboratorio de análisis médico.
2. Sueros de control normal y patológico.
3. REF 92026 : Solución NaOH 0,4 N (Xi, R36/38; S37/39, ver § REACTIVOS)

CALIBRACION

La validez de los resultados depende de la exactitud de la calibración del instrumento, de la justa medida del tiempo, del respeto de la relación volumen reactivo/volumen muestra y del control de la temperatura.

Se recomienda establecer una nueva Curva Estándar a cada nuevo lote de reactivo (§ CALCULO) o referirse a la **Curva Standard provista, específica del lote.**

CONTROL DE CALIDAD CODIGO SFBC: DX

- BIOLABO EXATROL-N (Tasa 1) REF 95010.
- BIOLABO EXATROL-P (Tasa 2) REF 95011.
- Cualquier otro suero de control titulado para este método.
- Programa externo de control de calidad.

Se recomienda controlar en los siguientes casos:

- Al menos un control por rutina.
- Al menos un control cada 24 horas.
- Cambio de vial del reactivo.
- Después de operación de mantenimiento sobre el analizador.

Cuando un valor de control se encuentra fuera de los límites de confianza recomendados, aplicar las siguientes acciones correctivas:

1. Repetir el test utilizando el mismo control.
2. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, preparar un suero de control recién reconstituido y repetir el test.
3. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, verificar los parámetros del análisis: longitud de onda, temperatura, volumen muestra/volumen reactivo, tiempo de medida y factor de calibración.
4. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, utilizar otro vial de reactivo y repetir el test.
5. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, contactar el servicio técnico BIOLABO o el distribuidor local.

INTERVALOS DE REFERENCIA (2)

ALT (UI/L)	a 30°C	a 37°C
Recién nacidos, niños	9-32	13-45
Hombres	7-28	10-40
Mujeres	5-25	7-35

AST (UI/L)	a 30°C	a 37°C
Recién nacidos	25-75	39-117
Niño	15-60	23-94
Adulto	8-20	13-31

Se recomienda a cada laboratorio definir sus propios intervalos de referencias para la población estimada.

PRESTACIONES

92025: GOT

Intra-serie N = 20	Tasa normal	Tasa elevada	Inter-serie N = 20	Tasa normal	Tasa elevada
Media UI/L	37,7	167	Media UI/L	38	144
S.D. UI/L	1,1	9,4	S.D. UI/L	3,75	13,5
C.V. %	2,9	5,6	C.V. %	9,9	9,3

Límite de detección: aproximadamente 7,2 UI/L

Sensibilidad para 100 UI/L: aproximadamente 0,200 Abs a 505nm.

Comparación con reactivo de la competencia:

$$y = 0,8984 x + 3,6 \quad r = 0,9729$$

92027: GPT

Intra-serie N = 20	Tasa normal	Tasa elevada	Inter-serie N = 20	Tasa normal	Tasa elevada
Media UI/L	51,6	90,6	Media UI/L	29,7	92
S.D. UI/L	2,2	2,5	S.D. UI/L	1,71	8,2
C.V. %	4,2	2,8	C.V. %	5,8	8,9

Límite de detección: aproximadamente 7,2 UI/L

Sensibilidad para 100 UI/L: aproximadamente 0,200 Abs a 505nm.

Comparación con reactivo de la competencia:

$$y = 1,0477 x - 2,3 \quad r = 0,9737$$

LIMITE DE LINEALIDAD

Más allá de 225 UI/L, diluir la muestra (1 + 9) con NaCl 9 g/L y hacer de nuevo la determinación multiplicando por 10 el resultado final leído sobre la curva (factor de dilución). El límite de linealidad depende de la relación de dilución muestra/reactivo.

MODO DE EMPLEO (TECNICA MANUAL)

Tabla 1: Establecimiento de las Curvas Estándar.

Poner los reactivos y muestras a temperatura ambiente.

Pipetear en tubos (mL) :

Tubo numero	1	2	3	4	5	6
Agua desmineralizada	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200
R1 o R2	1	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5
R4 (Estándar)	--	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
R3 (Colorante)	1	1	1	1	1	1
Mezclar. Dejar 20 minutos a temperatura ambiente. Añadir:						
NaOH 0,4 N o REF 92026	10	10	10	10	10	10
Mezclar. Esperar 5 minutos y leer las absorbancias a 505 nm contra agua.						
Unidades GOT	0	30	70	135	225	350
Unidades GPT	0	40	80	140	225	325
No es necesario hacer de nuevo estas curvas a cada ensayo.						

Tabla 2: ENSAYOS.

Poner los reactivos y muestras a temperatura ambiente.

Pipetear en tubos:	GOT	GPT
Reactivo R1	1 mL	
Reactivo R2		1 mL
Incubar 5 minutos a 37°C. Añadir:		
Suero	200 µl	200 µl
Mezclar y incubar a 37°C durante:	Exactamente 1 hora	Exactamente 30 minutos
Reactivo R3	1 mL	1 mL
Mezclar. Dejar 20 minutos a temperatura ambiente. Añadir:		
NaOH 0.4 N o REF 92026	10 mL	10 mL
Mezclar. Esperar 5 minutos y leer las absorbancias a 505 nm contra agua.		

Nota: Los volúmenes pueden ser reducidos de forma proporcional sin modificar los resultados.

CALCULO

- ✓ Referirse a la Curva Estándar provista, específica del lote

o

- ✓ Hacer las Curvas Estándar sobre papel milimetrado (Absorbancias) o semi-log (% transmisión) procediendo como se describe en la tabla 1.

Abscisa: Unidades en UI/L

Ordenada: Absorbancias (o porcentajes de transmisión)

Llevar las absorbancias de los ensayos o porcentajes de transmisión a la Curva Estándar correspondiente y calcular las actividades GOT o GPT en UI/L.

BIBLIOGRAFIA

- (1) TIETZ N.W. *Text book of clinical chemistry*, 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p. 652-657
- (2) *Clinical Guide to Laboratory Test*, 3rd Ed., N.W. TIETZ (1995) p. 20-21 et p.76-77.
- (3) YOUNG D.S., *Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests*, 4th Ed. (1995) p. 3-6 à 3-17 et p.3-68 à 3-79.
- (4) *A colorimetric method for the determination of serum GOT and GPT*, REITMAN S. and FRANKEL S., *Amer. J. Clin. Path.*, 1957; 28,p.56-63.