



UNIVERSIDAD NOBERT WIENER

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA EN
LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMIA PATOLÓGICA**

**“Variación del perfil bioquímico hepático en el transcurso del
tratamiento antirretroviral en muestras séricas VIH positivos en
un hospital nacional de lima, 2015 – 2017”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADA EN
TECNOLOGÍA MÉDICA EN LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMIA
PATOLÓGICA.**

Presentado por:

Bachiller: Arrieta Calderón, Cesia Ruth.

Bachiller: Barrial Vega, Miriam Lucero

LIMA – PERÚ

2019

Dedico este trabajo:

A Dios, por la vida y a mi familia por todo su apoyo.

A mis padres por ser mi inspiración y mi motivación diaria.

Agradezco a:

.

A todo el equipo de Inmunología del Hospital Nacional Hipólito

Unanue por las facilidades brindadas en este estudio.

ASESOR DE TESIS

Dr. Miguel Hernán Sandoval Vegas

JURADOS

INDICE

CAPÍTULO I:	1311
1.1. Planteamiento del Problema	¡Error! Marcador no definido.11
1.2. Formulación del Problema.....	¡Error! Marcador no definido.4
1.3. Justificación	¡Error! Marcador no definido.4
1.4. Objetivo	¡Error! Marcador no definido.5
1.4.1. General.....	¡Error! Marcador no definido.5
1.4.2. Específico	¡Error! Marcador no definido.5
CAPÍTULO II	2018
2.1. Antecedentes	¡Error! Marcador no definido.18
2.2. Base Teórica.....	¡Error! Marcador no definido.21
2.11. Hipótesis	¡Error! Marcador no definido.29
2.12. Variables e indicadores	¡Error! Marcador no definido.30
2.13. Definición operacional de términos	¡Error! Marcador no definido.32
CAPÍTULO III:	4033
3.1. Tipo de investigación	¡Error! Marcador no definido.33
3.2. Ámbito de Investigación	33
3.3. Población y muestra	¡Error! Marcador no definido.34
3.3.1. Población	¡Error! Marcador no definido.34
3.3.2. Muestra	¡Error! Marcador no definido.34
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	¡Error! Marcador no definido.35
3.5. Plan de procesamiento y análisis de datos.....	¡Error! Marcador no definido.36
3.6. Aspectos éticos.....	¡Error! Marcador no definido.37
CAPÍTULO IV:.....	4538
4.1 Resultados	4538
4.2 Discusión.....	¡Error! Marcador no definido.53
CAPÍTULO V:.....	6354
5.1. Conclusión	6354
5.2. Recomendaciones	6550
6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	¡Error! Marcador no definido.57
ANEXOS.....	¡Error! Marcador no definido.61

ÍNDICE DE TABLAS

TABLAS	Pág.
Tabla 1 Resultados descriptivos de la evaluación bioquímica de AST en pacientes VIH positivos en el transcurso del tratamiento antirretroviral.	38
Tabla 2 Distribución porcentual de la variación de AST en pacientes VIH positivos en el transcurso del tratamiento antirretroviral.	39
Tabla 3 Resultados descriptivos de la evaluación bioquímica de ALT en pacientes VIH positivos en el transcurso del tratamiento antirretroviral	41
Tabla 4 Distribución porcentual de la variación de ALT en pacientes VIH positivos el transcurso del tratamiento antirretroviral.	41
Tabla 5 Resultados descriptivos de la evaluación bioquímica de FA en pacientes VIH positivos en el transcurso del tratamiento antirretroviral.	44
Tabla 6 Distribución porcentual de la variación de FA en pacientes VIH positivos en el transcurso del tratamiento antirretroviral.	44
Tabla 7 Resultados descriptivos de la evaluación bioquímica de GGTP en pacientes VIH positivos en el transcurso del tratamiento antirretroviral.	46
Tabla 8 Distribución porcentual de la variación de GGTP en pacientes VIH positivos en el transcurso del tratamiento antirretroviral.	47
Tabla 9. Resultados descriptivos de la evaluación bioquímica de PT en pacientes VIH positivos en el transcurso del tratamiento antirretroviral.	49
Tabla 10. Distribución porcentual de la variación de PT en el transcurso del tratamiento antirretroviral.	
Tabla 11. Diferencia entre mediciones de AST, ALT, GGT, PT, FA según edad.	51

Tabla 12. Diferencia entre mediciones de AST, ALT, GGT, PT, FA según sexo.

52

INDICE DE GRÁFICOS

FIGURA	Pág.
Figura 1 Distribución de los valores finales de AST en pacientes VIH positivos el transcurso del tratamiento antirretroviral	40
Figura 2 Distribución de los valores finales de ALT en pacientes VIH positivos el transcurso del tratamiento antirretroviral	42
Figura 3 Variación de las concentraciones promedio de AST y ALT en pacientes VIH positivos en el transcurso del tratamiento antirretroviral.	43
Gráfico 4 Distribución de los valores finales de FA en pacientes VIH positivos en el transcurso del tratamiento antirretroviral.	45
Figura 5 Distribución de los valores finales de GGTP en pacientes VIH positivos en el transcurso del tratamiento antirretroviral.	48
Figura 6 Distribución de los valores finales de AST en pacientes VIH positivos en el transcurso del tratamiento antirretroviral.	50

Resumen

Introducción: la enfermedad hepática en pacientes VIH positivos puede deberse a la infección viral, a la terapia antiretroviral, y a las comorbilidades o coinfecciones. El objetivo del presente estudio fue determinar la variación del perfil bioquímico hepático en el transcurso del tratamiento antirretroviral en muestras séricas VIH positivos en un hospital nacional de Lima, 2015 – 2017.

Metodología: realizamos un estudio descriptivo, de corte transversal retrospectivo en un hospital nacional de Lima durante el trienio 2015-2017. La unidad muestral la conformaron los pacientes VIH positivos en cualquier estadio de infección clínica, con terapia antiretroviral de gran actividad (TARGA) activo, de ambos sexos, con resultados del perfil hepático de para Alanina Amino Transferasa (ALAT), Amino Aspartato Transferasa (ASAT), fosfatasa alcalina (FA), Gamma - Glutamil Transpeptidasa (GGT), y proteínas totales (PT). Los resultados séricos fueron evaluados dentro de los límites de normalidad y en cada uno de los tres controles de perfil hepático.

Resultados: Incluimos 100 pacientes HIV positivos con promedio de edad de 33 ± 9.56 años. Los valores de ASAT y ALAT disminuyeron entre el primer y tercer control siendo significativa entre los valores normales y alterados para AST ($p < 0.05$). GGT, FC y PT no evidenciaron cambios entre los controles ni diferencias entre los pacientes normales y elevados.

Conclusión: Existe una variación del perfil bioquímico hepático en el transcurso del tratamiento antirretroviral en muestras séricas VIH positivos en un hospital nacional de Lima, 2015 – 2017, principalmente para AST.

Palabras claves: virus de inmunodeficiencia adquirida, hígado, tratamiento retroviral de gran alcance, Perú.

Abstract

Introduction: liver disease in HIV positive patients may be due to viral infection, antiretroviral therapy, and co-morbidities or co-infections. The objective of the present study was to determine the variation of the liver biochemical profile during the course of antiretroviral treatment in HIV positive serum samples in a national hospital in Lima, 2015 - 2017.

Methodology: we conducted a descriptive, retrospective cross-sectional study in a national hospital in Lima during the 2015-2017 triennium. The sample was made up of HIV positive patients at any stage of clinical infection, with active antiretroviral therapy (HAART) of both sexes, with liver profile results for Alanine Amino Transferase (ALAT), Amino Aspartate Transferase (ASAT), alkaline phosphatase (FA), Gamma-Glutamyl Transpeptidase (GGT), and total proteins (PT). Serum results were evaluated within normal limits and in each of the three liver profile controls.

Results: We included 100 HIV positive patients with an average age of 33 ± 9.56 years. The ASAT and ALAT values decreased between the first and third controls, being significant between normal and altered values for AST ($p < 0.05$). GGT, FC and PT did not show changes between controls or differences between normal and elevated patients.

Conclusion: There is a variation of the liver biochemical profile during the course of antiretroviral treatment in HIV positive serum samples in a national hospital in Lima, 2015 - 2017, mainly for AST.

Keywords: Human immunodeficiency virus, liver, high active antiretroviral treatment, Peru.

CAPÍTULO I: EL PROBLEMA

1. EL PROBLEMA

1.1. Planteamiento del problema

La humanidad, desde sus inicios, se ha visto enfrentada a plagas que han diezmado pueblos enteros. A través de la historia, las enfermedades infecciosas han desempeñado un papel importante en el bienestar de las naciones y han condicionado la supervivencia y el desarrollo de cada colectivo social.

Algunas enfermedades infecciosas han desaparecido, así como también han adquirido mecanismos para su propagación y establecimiento bajo diversos contextos siendo emergentes y re emergiendo conforme las condiciones medioambientales. Ejemplo de la trascendencia de las enfermedades infecciosas en la edad antigua fue la Lepra (ocasionado por *Mycobacterium leprae*), en la edad media fue la Peste Negra (ocasionado por *Yersinia pestis*), y actualmente, y desde la década de los 80's el SIDA (Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida) ocasionado por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH).¹

Este retrovirus presenta dos subtipos VIH-1, como el causante de esta entidad clínica cosmopolita, y VIH-2, de afectación principal en pacientes con SIDA en África occidental.²

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), a pesar de los incommensurables esfuerzos internacionales en contra de la llamada epidemia rosa ocasionada por la masiva infección por el VIH, esta continúa representando una grave amenaza para la Salud Pública en todas las regiones, aunque conforme se ha planteado en la novel era post SIDA, esta está siendo considerada ya como una enfermedad crónica más que una enfermedad infecciosa.

Si bien la incidencia total del VIH ha decaído progresivamente en las últimas décadas, en algunos países y regiones esta se mantiene y presenta incrementos considerables. Esto podría deberse a un complejo grupo de factores como las migraciones, las coinfecciones (infecciones por *Mycobacterium tuberculosis*, etc.) y comorbilidades (como cáncer, etc.), el limitado acceso a tratamiento, limitaciones en los programas de prevención y control de HIV/SIDA, bajo sostenimiento socio-sanitario, entre otros.^{3,4} El enorme progreso en la reducción de la morbimortalidad por el VIH/SIDA se ha logrado gracias a la ampliación del acceso a los terapia antiretroviral de gran actividad (TARGA). Sin embargo, el éxito del tratamiento está determinado también por las complicaciones progresivas de estos pacientes ya sea por las causas limitantes que referimos líneas arriba como por las reacciones adversas del TARGA, y de otros tratamientos.⁵

Según los informes para el 2017 del Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA (ONUSIDA), el 75% de personas que viven con VIH/SIDA conocían su estado de salud. De estas, el 79% tenían acceso al tratamiento, y el 81% de pacientes con tratamiento habían logrado la supresión viral.⁶ En el Perú, anualmente se reportan 2800 nuevos casos de infección por VIH y existe alrededor de 72 mil personas viviendo con la infección por VIH.⁶ La introducción del TARGA por parte del Ministerio de Salud del Perú (MINSa) se inició en el año 2004, esta ha logrado acometer contra la morbimortalidad por infecciones oportunistas, por comorbilidad o propio de la enfermedad.⁷

Diversos estudios han señalado que la enfermedad hepática en pacientes infectados por el VIH puede ser el resultado de la infección en sí, del tratamiento antirretroviral o las comorbilidades.^{8,9} Así, estas alteraciones pueden ocasionar que los pacientes con infección por VIH pueden desarrollar enfermedad hepática crónica debido a una serie de factores, incluida la esteatosis hepática, y estas alteraciones en el perfil hepático no han sido aún evaluados en pacientes VIH positivos en Lima, Perú.

Ante esta problemática nos planteamos el siguiente problema de investigación:

1.2. Formulación del problema

¿Cuál será la variación del perfil bioquímico hepático en el transcurso del tratamiento antirretroviral en muestras séricas VIH positivos en un hospital nacional de Lima, 2015 – 2017?

1.3 Justificación

Para promover la prevención y el control de la infección por VIH, el TARGA constituye uno de los pilares en las intervenciones sanitarias que el equipo de salud utiliza para hacerle frente a esta enfermedad. Los efectos adversos que pudieran derivar del TARGA son ocasionalmente eventos que pueden limitar el uso del tratamiento y por tanto el agravamiento de los pacientes. Una de las principales reacciones medicamentosas es la hepatotoxicidad, siendo esta un componente que puede repercutir en el estado de salud de los pacientes VIH positivos. Aparte, de lo que bien mencionamos sobre el tratamiento, la propia infección viral o coinfecciones (como hepatitis B o C) o comorbilidades (como cáncer, diabetes, etc.) pueden también ocasionar lesión hepática. Cualquiera fuese el caso estas pueden monitorearse a través de indicadores séricos de función hepática.

En ese sentido, la investigación planteada contribuirá a estimar, en principio, los valores séricos marcadores de función hepática, y las variaciones de estos marcadores durante un periodo de estudio. Asimismo, los resultados de este estudio permitirán

establecer los valores normales o alterados de función hepática de los pacientes VIH positivos de importancia para los analistas clínicos en la evaluación diaria de muestras séricas. Por otro lado, mediante la investigación se realizará una evaluación cuantitativa de los datos durante el periodo de estudio y para cada magnitud biológica de función hepática analizado.

1.4. Objetivo

1.4.1. General

Determinar la variación del perfil bioquímico hepático en el transcurso del tratamiento antirretroviral en muestras séricas VIH positivos en un hospital nacional de Lima, 2015 – 2017.

1.4.2. Específico

- Determinar la variación de la actividad Amino Aspartato Transferasa (AST) en el transcurso del tratamiento antirretroviral en muestras séricas VIH positivos en un hospital nacional de Lima, 2015 – 2017.
- Determinar la variación de la actividad Alanina Amino Transferasa (ALT) en el transcurso del tratamiento antirretroviral en muestras séricas VIH positivos en un hospital nacional de Lima, 2015 – 2017.
- Establecer la variación de la actividad Fosfatasa Alcalina (FA) en el transcurso del tratamiento

antirretroviral en muestras séricas VIH positivos en un hospital nacional de Lima, 2015 – 2017.

- Establecer la variación de la actividad Gamma - Glutamil Transpeptidasa (GGT) en el transcurso del tratamiento antirretroviral en muestras séricas VIH positivos en un hospital nacional de Lima, 2015 – 2017.
- Determinar la variación de la actividad Proteínas Totales en el transcurso del tratamiento antirretroviral en muestras séricas VIH positivos en un hospital nacional de Lima, 2015 – 2017.
- Determinar la variación del perfil bioquímico hepático (Amino Aspartato Transferasa, Alanina Amino Transferasa, Fosfatasa Alcalina, Gamma - Glutamil Transpeptidasa, proteínas totales) según edad en el transcurso del tratamiento antirretroviral en muestras séricas VIH positivos en un hospital nacional de Lima, 2015 – 2017.
- Determinar la variación del perfil bioquímico hepático (Amino Aspartato Transferasa, Alanina Amino Transferasa, Fosfatasa Alcalina, Gamma - Glutamil Transpeptidasa, proteínas totales) según sexo en el transcurso del tratamiento antirretroviral en muestras séricas VIH positivos en un hospital nacional de Lima, 2015 – 2017.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Laura et al. (2019), evaluaron retrospectivamente todas las biopsias hepáticas realizadas en el Royal Free Hospital de 2000 a 2017 en pacientes monoinfectados por VIH con transaminasas anormales, para evaluar la causa subyacente de la enfermedad hepática y caracterizar el grado de fibrosis. Incluyeron 97 pacientes. Los hallazgos histológicos más comunes fueron enfermedad de hígado graso no alcohólico (28%), cambios inespecíficos (26%) e histología normal (13%). El veinte por ciento de los pacientes tenía fibrosis significativa y el 11% tenía fibrosis avanzada. Los autores concluyen que entre los pacientes VIH positivos con transaminasas elevadas, un número sorprendentemente alto de pacientes tuvo cambios no significativos o incluso hallazgos histológicos normales.¹⁰

Mohite et al. (2017) En su estudio titulado “Cambio de perfil clínico y factores asociados con anormalidades de las enzimas hepáticas en personas infectadas con VIH” evaluaron 98 VIH positivo con función hepática alterada comparándolos con pacientes VIH positivos con función hepática normal y también pacientes VIH negativos con pruebas de función hepática normales. Sus resultados demostraron que la lesión hepática inducida por fármacos es la causa más común de pruebas hepáticas anormales en pacientes infectados por el VIH.¹¹

Lombardi et al. (2017) Estimaron la prevalencia y los predictores de esteatosis hepática y fibrosis en una cohorte de 156 pacientes infectados por el VIH con pruebas de función hepática alteradas de forma persistente (transaminasas anormales persistentes en al menos dos mediciones con seis meses de diferencia) en un centro clínico del Reino Unido cuya edad media fue $47,5 \pm 8,5$ años y donde el 91% (142/156) fueron hombres. La esteatosis se detectó por ultrasonido en el 71% de los pacientes que fue asociado con niveles más altos de alanina aminotransferasa (OR 1.033, 95 % CI 1.015-1.510). Veinte pacientes tenían hígadobiopsia, de los cuales 13 tenían enfermedad del hígado graso no alcohólico. Los autores concluyen que las transaminasas elevadas a menudo están presentes en pacientes infectados con VIH y que pueden estar asociados con enfermedad del hígado graso no alcohólico.¹²

Pathania et al. (2017) determinaron la prevalencia de anormalidades de las pruebas de función hepática en 247 pacientes VIH positivos en un

hospital terciario de India occidental. De estos, 212 (85.82%) estaban en terapia antirretroviral (ART), 111 (44.93%) estaban en terapia antituberculosa (ATT) y 94 (38.05%) estaban en ATT-ART concurrente. Se observaron las pruebas de función hepática anormales en 128/247 (51.82%) pacientes. En la mayoría (88.28%), las anomalías de pruebas de función hepática fueron leves. Se observaron anomalías de pruebas de función hepática en 109/212 (51.4%) pacientes con ART, en 56/111 (50.5%) pacientes con ATT, 46/94 (48.93%) pacientes con ART-ATT concurrente. Hubo una correlación estadísticamente significativa entre la relación albúmina/globulina y el recuento de CD4 ($p=0.0002$). Concluyen que determinaron alteraciones en las pruebas de función hepática en alrededor de la mitad de pacientes.¹³

Pokorska-Śpiewak et al. (2017) analizaron la enfermedad hepática en 79 niños y adolescentes infectados con VIH de 14.0 ± 5.1 años. Todos los pacientes estaban recibiendo TARGA, con una duración media de $11,5 \pm 4,7$ años. Seis pacientes (8%) tenían una carga viral de VIH detectable, y 8/79 (10%) de los participantes fueron coinfectados con el virus de la hepatitis B o C (VHC, 6/8 o VHB, 2/8). La enfermedad hepática se definió como una elevación de cualquiera de los siguientes parámetros: ALT y AST, bilirrubina total y GGT. La enfermedad hepática se diagnosticó en 20/79 (25%) de los pacientes, incluidos 13/71 (18%) de los participantes sin coinfección y 7/8 (88%) con coinfección ($p < 0,0001$). Todos los marcadores hepáticos, excepto la bilirrubina, fueron significativamente más altos en el grupo coinfectado. En conclusión, los autores indican que

la enfermedad hepática en niños y adolescentes infectados por el VIH se debe principalmente a la coinfección por VHB o VHC.¹⁴

2.2. Base teórica

2.2.1. Epidemia global de VIH

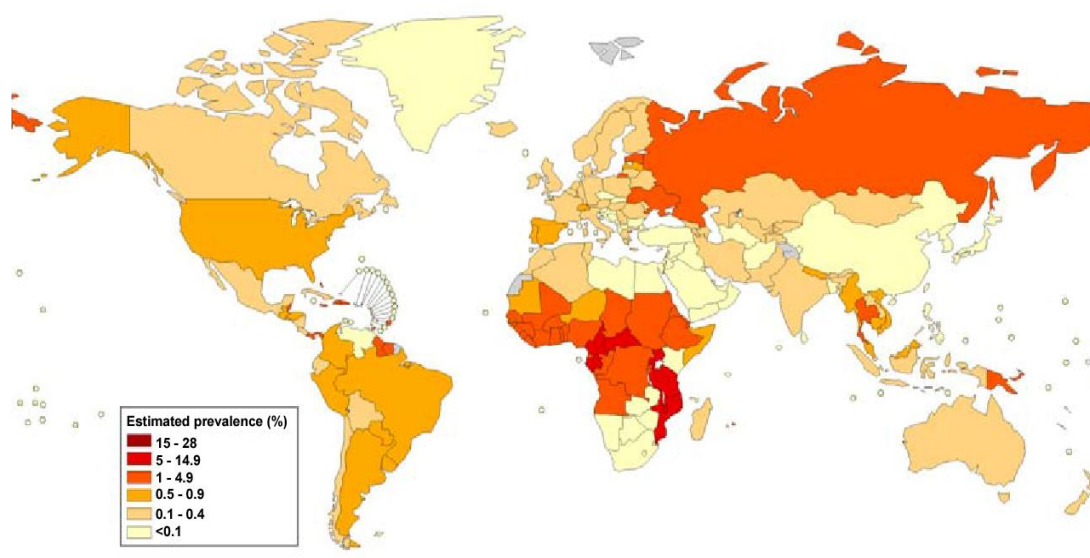
Desde el reconocimiento del VIH en 1983 como la causa del SIDA, aproximadamente 78 millones de personas tienen infectarse con el VIH y alrededor de 39 millones han muerto de SIDA.¹⁵

La región del África subsahariana es la más afectada. En 2014, casi el 70% de las nuevas infecciones por VIH ocurrieron en África subsahariana. Además, la epidemia todavía se está extendiendo rápidamente en la región de Europa. En 2014, el mayor número de personas recién registradas (140,000) casos de VIH diagnosticados se informaron en la región.¹⁵ Hasta hoy no se ha curado el VIH-1 descubierto. El HAART limita la transmisión del VIH-1 y reduce mortalidad.¹⁶ Sin embargo, los pacientes en entornos de escasos recursos aún tienen tasas de mortalidad aumentadas durante los primeros meses en TAR debido al diagnóstico tardío con recuentos bajos de linfocitos T CD4+.¹⁷ En 2014, 14.9 millones de pacientes infectados con VIH-1 recibieron HAART y 13.5 millones vivían en países de ingresos medios y bajos.¹⁸ Desde que se convirtió en la primera terapia de combinación efectiva disponible en 1996, se han desarrollado nuevos fármacos con potencia y tolerabilidad mejoradas.¹⁹ Incluso si el HAART ha transformado la enfermedad que una vez fue mortal en una condición crónica pero manejable, sin embargo, la resistencia a los medicamentos sigue siendo una preocupación

importante en un subconjunto de pacientes debido a su asociación con peor pronóstico clínico.²⁰ Además, contribuye a aumentar los costos de la atención del VIH-1.²¹

Actualmente más de 100 mutaciones de resistencia a los medicamentos, que reducen la susceptibilidad a al menos una drogas se han identificado en el genoma del VIH-1.²² Sin embargo, las pruebas clínicas de rutina para resistencia no están disponibles par poblaciones de bajos y medianos ingresos donde solo hay un número limitado de opciones de tratamiento.²³

Figura 1. Estimaciones de prevalencia en el mundo entero en población de 15 a 49 años. Tomado de World Health Organization. HIV burden estimation 2006. Geneva: WHO; 2017



2.2.2. Infecciones por VIH y patogénesis

La infección por VIH se transmite a través de la eliminación viral en las lesiones de la superficie de la mucosa en contacto con fluidos corporales

infectados como sangre, semen o secreciones vaginales.²⁴ La entrada de VIH en el huésped es a través del sistema inmunitario es principalmente a través de interacciones entre los linfocitos T CD4+ y la presencia de co-receptores de quimiocinas CCR5 y CXCR4.²⁵ Otras células como las células dendríticas, los monocitos y los macrófagos pueden infectarse por el VIH a través de los linfocitos T CD4+.²⁶ Sin embargo, la absorción viral por parte de otras células puede ser independiente de la presencia de linfocitos T CD4+, sino mediadas por otras quimiocinas o proteínas virales, por ejemplo, infección de astrocitos y células epiteliales renales.²⁷

La transmisión del VIH es seguida inicialmente por una replicación viral rápida y activación del sistema inmune a través de la fuga del virus a través de la mucosa del tracto gastrointestinal en circulación sistémica antes de alcanzar un punto de ajuste viral. Esta activación inmune se caracteriza por la liberación de citocinas proinflamatorias y quimiocinas, activación policlonal de células B y agotamiento progresivo de CD4.²⁸

2.2.3. Complicaciones asociadas por HIV

La infección por VIH se ha asociado con una amplia gama de complicaciones clínicas y Las anomalías hematológicas se encuentran entre las más comunes. La infección por VIH influye en todas líneas celulares hematopoyéticas que conducen a un espectro de anomalías hematológicas más importantes y las más comunes de estas son anormalidades que afectan los elementos celulares en sangre periférica

conocida como citopenias.²⁹ Otras complicaciones hematológicas pueden implican la médula ósea, así como las vías de coagulación. Las citopenias pueden ser causadas por aumento de la destrucción o reducción de la producción de glóbulos blancos (leucopenia o neutropenia), glóbulos rojos (anemia) y plaquetas (trombocitopenia).

Las causas de las anomalías hematológicas en el VIH son multifactoriales con varios factores contribuyentes y su frecuencia aumenta con la progresión de la enfermedad.³⁰

2.2.4. Fases de la infección por VIH

La historia natural de la infección por VIH tiene un desarrollo lento el cual permite que el virus destruya los linfocitos T CD4+. El estadio subclínico impide el reconocimiento clínico de la infección viral, dado que en esta fase el VIH penetra en el organismo, a través de la unión de sus receptores, ocasionando una fase aguda, o precoz de la infección con posibilidad de manifestación clínica temprana.

La infección aguda es la fase inicial de infección por VIH. Suele manifestarse de 2 a 10 semanas después de que una persona ha contraído el virus. Durante esta fase, muchas personas tienen síntomas como fiebre, dolor de cabeza, aumento del tamaño de los ganglios y erupción cutánea. En esta fase, el VIH se reproduce rápidamente y se propaga por todo el organismo. Al cabo de días o semanas ceden los síntomas de forma espontánea y se pasa a la siguiente fase. El VIH se puede transmitir en cualquier fase de infección, pero el riesgo es mayor durante esta fase aguda.

En la fase intermedia, el virus de sigue replicándose, manteniendo los linfocitos T CD4+ cada vez en concentraciones menores, sin embargo el organismo es capaz de reponer esta perdida y por tanto tratar de mantener esta cantidad, por lo que las personas infectadas por VIH pueden permanecer años sin tener manifestaciones de la infección. En esta etapa la parte evidenciable es la adenopatía periférica a nivel de los ganglios linfáticos aumentados de tamaño. Sin diagnóstico ni tratamiento esta fase evoluciona a SIDA al cabo de alrededor de una década.

La última fase se corresponde con la SIDA, esta etapa es la final y constituye la etapa de completa destrucción del sistema inmunitario, donde la desregulación posibilita el desarrollo de infecciones oportunistas (la neumonía por *Pneumocystis*, y la tuberculosis, por ejemplo) y tumores.³¹

2.2.5. Vías de transmisión

La principal vía de contagio de VIH es a través de las membranas mucosas de los genitales o el ano. Estas la constituyen las úlceras, llagas, microabrasiones en el tejido genital, etc. Además, otro mecanismo de contagio es cualquier vía que conduzca directamente al flujo sanguíneo, como los cortes en la boca, el compartir material punzocortante como riesgo de transmisión del VIH, o a través de dispositivos de transfusión.³²

Otra vía de transmisión es la vertical, en la que la madre infectada contagia progresiva y inmediatamente de la infección viral al feto a través de la placenta.³³

2.2.6. Viremia

La viremia (carga viral) es la cantidad de virus presente en la sangre u otros elementos del cuerpo humano por cada centímetro cúbico de fluido.

La carga viral determina hasta qué punto tienen capacidad de infección los fluidos corporales, estos niveles son más altos en las personas que han adquirido el virus recientemente (hasta 40 millones de copias/mL en sangre. En cambio, una persona que reciba tratamiento, la viremia debe ser progresivamente menor hasta considerarse “indetectable”, con un nivel por debajo del nivel de detección de 20 copias/mL.³¹

2.2.7. Perfil hepático

Análisis serológico que compromete la evaluación de marcadores bioquímicos que establecen el funcionamiento del hígado, que puede indicar la alteración o el normal funcionamiento de este órgano.

2.2.8. Perfil hepático

Análisis serológico que compromete la evaluación de marcadores bioquímicos que establecen el funcionamiento del hígado, que puede indicar la alteración o el normal funcionamiento de este órgano. La constituyen los siguientes marcadores séricos.

2.2.8. Aspartato transaminasa

La aspartato aminotransferasa (AST) es una enzima transaminasa dependiente de fosfato piridoxal (EC 2.6.1.1) que cataliza la transferencia

reversible de un grupo α -amino entre el aspartato y el glutamato y, como tal, es una enzima importante en el metabolismo de los aminoácidos. La AST se encuentra en el hígado, corazón, músculo esquelético, riñones, cerebro, y glóbulos rojos en la forma de isoenzimas.³⁴

2.2.9. Alanina transaminasa

La alanina transaminasa (ALT) es una enzima transaminasa (EC 2.6.1.2) que cataliza las dos partes del ciclo de alanina, pudiendo hallarse en diferentes órganos pero principalmente en el hígado. La ALT se mide comúnmente clínicamente como parte de las pruebas de función hepática y es un componente de la relación AST / ALT.³⁴

2.2.8. Bilirrubina

La bilirrubina es un compuesto amarillo que ocurre en la vía catabólica normal que descompone el hemo en los vertebrados a través del proceso conocido como hemocaterésis. Este catabolismo es un proceso necesario en la eliminación del cuerpo de productos de desecho que surgen de la destrucción de glóbulos rojos viejos o anormales. La bilirrubina se excreta en la bilis y la orina, y los niveles elevados pueden indicar ciertas enfermedades.³⁵ Existe bilirrubina no conjugada, conjugada y la sumatoria de estas que representa el total, conforme el ciclo de procesamiento de bilirrubina a partir de la hemocatéresis.

2.2.8. gamma-glutamyltransferasa

La gamma-glutamyltransferasa (GGT) es una transferasa que cataliza la transferencia de grupos funcionales gamma- glutamil de moléculas como el glutatión a un aceptor que puede ser un aminoácido, un péptido o agua (formando glutamato). La GGT (EC 2.3.2.2) juega un papel clave en el ciclo gamma-glutamilo, una vía para la síntesis y degradación del glutatión, así como la desintoxicación de fármacos y xenobióticos. Otras líneas de evidencia indican que GGT también puede ejercer un papel prooxidante, con efectos reguladores a varios niveles en la transducción de señales celulares y la fisiopatología celular. Esta transferasa se encuentra en muchos tejidos, el más notable es el hígado, y tiene importancia en la medicina como marcador de diagnóstico.³⁶

2.2.8. Fosfatasa alcalina

La fosfatasa alcalina (EC 3.1.3.1) es una enzima hidrolasa de 50.000 - 60.000 Da, responsable de eliminar grupos de fosfatos de varios tipos de moléculas como nucleótidos, proteínas y otros compuestos fosforilados, a través de la desfosforilación en un entorno alcalino. Estas enzimas proceden de la ruptura normal de las células sanguíneas y de otros tejidos, muchas de ellas no tienen un papel metabólico en el plasma excepto las enzimas relacionadas con la coagulación y con el sistema del complemento. La fosfatasa es una enzima clasificada dentro de las hidrolasas. Las fosfatasas alcalinas son enzimas que se encuentran presentes en casi todos los tejidos del organismo, siendo particularmente alta en huesos, hígado, placenta, intestinos y riñón.³⁷

2.2.9. Tratamiento Antiretroviral de Gran Alcance

A pesar de que la erradicación viral aún no se puede lograr con los métodos actuales, las terapias que abarcan varios medicamentos (Tratamiento Antiretroviral de Gran Alcance - TARGA) conducen a una reducción de la morbilidad y mortalidad relacionadas con el VIH.³⁸

Hay varios medicamentos disponibles, que interfieren con diferentes pasos en la replicación del ciclo de VIH y así inhiben la construcción de partículas virales infecciosas, esto son, a saber:

- *Los inhibidores de la transcriptasa inversa (RTI)* que impiden la construcción de ADN viral inhibiendo la transcriptasa inversa viral.

Los RTI se pueden subdividir en dos clases:

- Los inhibidores de la transcriptasa inversa nucleósidos (NRTI) que son semejantes a los nucleósidos. Su mecanismo de acción está referido a cuando la transcriptasa inversa la usa para la construcción de ADN viral, causa la terminación del alargamiento de la cadena de ADN y, por lo tanto, conduce a una transferencia incompleta de ARN viral al ADN.
- Los inhibidores de la transcriptasa inversa no nucleosídicos (NNRTI) se dirigen directamente al sitio activo de la transcriptasa inversa, estos se unen específicamente a él y por lo tanto inhibe su función catalítica.

- Los *inhibidores de la proteasa (IP)* dificultan la maduración de las proteínas virales al inhibir específicamente la enzima viral proteasa. Esto se logra mediante un contacto directo con su sitio de unión. El resultado de la proteasa deteriorada son viriones inmaduros.
- Los *inhibidores de la integrasa (II)* se desarrollan actualmente para evitar la integración del virus ADN en el genoma de la célula huésped mediante el bloqueo directo de la integrasa viral.
- Los *inhibidores de entrada y fusión (FI y EI)* interfieren con la unión de partículas virales a la superficie de la célula huésped.

2.2.10. Tratamiento de recuperación

Posterior a la evaluación por el personal de salud, la atención integral del paciente con infección VIH debe de incluir su ingreso al TARGA conforme los requerimientos de admisión al programa de tratamiento. Para que una persona sea incluida en el TARGA debe de cumplir alguna de las siguientes características:

- Ser un paciente con infección por el VIH que presente síntomas relacionados a inmunosupresión.
- Poseer un recuento de linfocitos T CD4+ ≤ 500 células/ μ L con inmunosupresión.
- Ser un paciente, que independientemente de los dos criterios previos, que presente algunas de condiciones como nefropatía, neoplasias, coinfección con hepatitis B o C de manera crónica, entre otros.³⁹
- Toda persona con infección aguda por el VIH, que presente síntomas.

- En una pareja serodiscordante estable, para disminuir el riesgo de transmisión sexual, se deberá iniciar el TARGA al miembro de la pareja con infección VIH, independientemente de sus síntomas o su recuento de linfocitos CD4.

Según estos criterios, los esquemas de tratamiento antirretroviral de elección y alternativos son los siguientes conforme la norma técnica de salud de atención integral del adulto con infección por VIH:³⁹

2.2.11. Resistencia viral y fracaso terapéutico

La capacidad del virus para replicarse a pesar de la presencia de un medicamento determinado se conoce como resistencia a los medicamentos. Esta es una razón común para el fracaso del tratamiento.

Esquema de elección	Dosificación	Observaciones
Tenofovir / Emtricitabina / Efavirenz (TDF/FTC/EFV)	1 tableta de Tenofovir 300 mg / Emtricitabina 200 mg / Efavirenz 600 mg, en dosis fija combinada (DFC), cada 24 horas (al acostarse).	
Esquemas alternativos	Dosificación	Observaciones
Tenofovir / Emtricitabina + Efavirenz (TDF/FTC+EFV)	1 tableta de Tenofovir 300 mg / Emtricitabina 200 mg (DFC), MAS 1 tableta de Efavirenz 600 mg juntas cada 24 horas (al acostarse)	Se utilizará este esquema, cuando no se cuente con la presentación en dosis fija combinada
Tenofovir + Lamivudina + Efavirenz (TDF+3TC+EFV)	1 tableta de Tenofovir 300 mg MAS 2 tabletas de Lamivudina 150 mg MAS 1 tableta de Efavirenz 600 mg juntas cada 24 horas (al acostarse).	Se utilizará este esquema, cuando no se cuente con la presentación en dosis fija combinada.
Abacavir / Lamivudina + Efavirenz (ABC/3TC+EFV)	1 tableta de Abacavir 600 mg / Lamivudina 300 mg (DFC) cada 24 horas MAS 1 tableta de Efavirenz 600 mg cada 24 horas (al acostarse).	Solamente en pacientes con CV < 100 000 copias/mL, con examen de HLA B*5701 negativo y que tengan contraindicación para el uso del esquema de elección.
Abacavir + Lamivudina + Efavirenz (ABC+3TC+EFV)	1 tableta de Abacavir 300 mg cada 12 horas MAS 1 tableta de Lamivudina 150 mg cada 12 horas MAS 1 tableta de Efavirenz 600 mg cada 24 horas (al acostarse).	Solamente en pacientes con CV < 100 000 copias/mL, con examen de HLA B*5701 negativo, que tengan contraindicación para el uso del esquema de elección y en ausencia de dosis fija combinada ABC/3TC.
Zidovudina / Lamivudina + Efavirenz (AZT/3TC+EFV)	1 tableta de Zidovudina 300 mg / Lamivudina 150 mg (DFC) cada 12 horas MAS 1 tableta de Efavirenz 600 mg cada 24 horas (al acostarse).	Para pacientes que tienen alguna contraindicación para el uso de Tenofovir o Abacavir.

Figura 1. Esquemas de TARGA. Tomado de NTS Atención integral.³⁹

La resistencia viral surge de mutaciones aleatorias en los genes virales que codifican la estructura molecular del objetivo farmacológico particular (es decir, transcriptasa inversa, proteasa, integrasa, etc.). Por lo general, se necesita más de una mutación para causar resistencia. Ya se han identificado varias mutaciones asociadas mediante pruebas de resistencia fenotípica y genotípica.⁴⁰ La interacción de la falta de lectura de prueba en la replicación viral, la diversidad genética y la selección explica la propagación de las mutaciones de resistencia en la población viral.⁴⁰

Una secuencia de base alternativa en los genes afectados conduce a una secuencia de aminoácidos alterada, que luego da como resultado una estructura alternativa de la proteína diana. Por lo tanto, es posible que cierto medicamento ya no tenga la capacidad de inhibir estructuralmente la función de la enzima. Esto da como resultado una replicación viral no inhibida. Además, la preexistencia de algunos genotipos resistentes en la población viral de un paciente en particular es bastante común.

Otro problema lo plantean las resistencias cruzadas. Esto describe el fenómeno, que ciertas mutaciones pueden hacer que el virus sea resistente a más de un medicamento. Por ejemplo, es probable que la resistencia a un IP en particular esté acompañada de resistencias a otras drogas de esa clase debido a la similitud estructural de los compuestos.

2.3. Hipótesis

Conforme lo objetivos de la investigación este estudio no amerita hipótesis.

2.4. Variables

Variable principal: perfil bioquímico hepático.

Variable secundaria: edad y sexo.

2.5. Operacionalización de Variables

VARIABLE	CONCEPTO CONCEPTUAL	CONCEPTO OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	VALOR FINAL
PERFIL BIOQUIMICO HEPATICO	Análisis serológico que compromete la evaluación de marcadores bioquímicos que establecen el funcionamiento del hígado, que puede indicar la alteración o el normal funcionamiento de este órgano	Medida en las muestras séricas de pacientes VIH positivos y con tratamiento retroviral	Pruebas de actividad enzimática Concentración de magnitud biológica	Aspartato aminotransferasa (AST) Alanina aminotransferasa (ALAT) Fosfatasa Alcalina (FA) Gamma glutamil transpeptidasa (GGT) Proteínas totales (PT)	5 - 34 U/l 0 – 55 U/l 65 – 300 U/l 12 – 64 U/l 6.1 – 7.9 g/dl

VARIABLE	CONCEPTO CONCEPTUAL	CONCEPTO OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	VALOR FINAL
EDAD	Tiempo que ha vivido una persona	Cantidad de años vividos por una persona	Años	Años	< 40 años > 40 años
SEXO	Condición orgánica masculina o femenina	Determinación dicotómica que caracteriza a un individuo		Masculino Femenino	Varón Mujer

2.5. Definición operacional de términos

Síndrome de inmunodeficiencia adquirida: enfermedad del sistema inmune humano que se caracteriza por la reducción en el número de células T CD4 al 20 por ciento o menos de lo normal, lo que hace que el sujeto sea altamente vulnerable a afecciones potencialmente mortales.

Virus de Inmunodeficiencia adquirida: cualquiera de los dos retrovirus que infectan y destruyen las células T auxiliares del sistema inmunitario, causando una marcada reducción en su número que es diagnóstico de SIDA.

TARGA: Tratamiento antirretroviral de gran alcance

Hepatotoxicidad: daño funcional o anatómico del hígado inducido por ingestión de compuestos químicos u orgánicos.

Perfil hepático: análisis serológico que compromete la evaluación de marcadores bioquímicos que establecen el funcionamiento del hígado, que puede indicar la alteración o el normal funcionamiento de este órgano.

CAPÍTULO III: DISEÑO METODOLÓGICO

3.1. Tipo de investigación

Conforme los objetivos planteados este estudio reúnen las características de una investigación aplicada, con diseño descriptivo, de corte transversal retrospectivo.

El enfoque de la investigación será cuantitativo.

3.2. Ámbito de Investigación

La investigación se desarrolló en enmarcado en las Ciencias de la Vida, en el área de las Ciencias de la Salud. Esto representa los resultados denotados del Laboratorio clínico, de un hospital nacional de Lima, Perú. Este hospital pertenece al Ministerio de Salud, es un nosocomio Nivel III-B, que atiende procesa alrededor de 40 mil pacientes por año, en diferentes áreas como Bioquímica, Hematología, Microbiología, Banco de Sangre, Patología, e Inmunología.

La línea de investigación en la que se enmarca este estudio es Salud, enfermedad y ambiente.

3.3. Población y muestra

3.3.1 Población

La población de estudio lo conformaron los pacientes VIH positivos admitidos en el hospital nacional de Lima, Perú durante el periodo 2015 a 2017.

1.3.2 Muestra

La muestra del estudio lo conformaron los pacientes VIH positivos admitidos en el hospital nacional de Lima, Perú durante el periodo 2015 a 2017 que se hayan realizado pruebas de perfil hepático. Estos serán seleccionados respetando los criterios de exclusión e inclusión planteados anteriormente:

1.3.2.1 Criterios de Inclusión

1. Pacientes VIH positivos en cualquier estadio de infección clínica.
2. Pacientes VIH positivos con TARGA activo
3. Paciente de ambos sexos, HSH y MSM.
4. Muestra de sangre de pacientes mayores de 18 a 60 años.
5. Resultados completos del perfil hepático de para ALT, AST, FA, GGT y PT en el periodo de estudio.

1.3.2.2 Criterios de exclusión

1. Pacientes VIH negativos.
2. Pacientes VIH positivos sin TARGA.
3. Muestra de sangre de pacientes menores de 18 y mayores 60 años.
4. Resultados del perfil hepático incompletos o con alguna observación para ALT, AST, FA, GGT y PT por parte del personal del laboratorio a cargo.

1.3.2.3 Muestreo: El tipo de muestreo será no probabilístico, por conveniencia.

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.4.1. Análisis serológico de muestras

El análisis de las muestras serológicas se llevó a cabo en el Área de Bioquímica del Hospital. Las muestras analizadas fueron de sangre venosa procesadas según recomendaciones internacionales.³⁸ Las determinaciones séricas de ALAT, ASAT, FA, GGT y TP se realizaron bajo el método de electroquimioluminiscencia (**Anexo 2**).³⁹ El procesamiento de las muestras se realizó en el equipo automatizado Architect i2000. La determinación de los valores normales se realizó conforme los lineamientos y el Procedimiento Operacional Estandarizado del hospital.

3.4.2. Recolección de datos

La recolección de datos conforme los objetivos del estudio se realizaron mediante una ficha de recolección de datos (**Anexo 3**).

La recolección de los datos del presente estudio fue a través de la base de datos del hospital es MS Excel 2010, desde donde se verificaron los datos y se tabularon los datos. En la ficha de recolección de datos se obtuvo la información necesaria relacionada con la edad, sexo y perfil hepático (AST, ALT, FA, GGT y PT) de pacientes con muestras séricas VIH positivo incluidos durante el periodo de estudio.

3.5. Plan de procesamiento y análisis de datos

Con los datos codificados en las fichas de recolección de datos se tabularon los mismos hacia una matriz de datos en MS-Excel 2010 para Windows. En esta matriz se realizó una segunda revisión de datos y se procedió a su procesamiento estadístico.

3.5.1. Análisis estadístico de datos

Todos los datos ingresados en la matriz de recolección de datos se incluyeron al software estadístico IBM SPSS v23.0 (Armonk, USA) para Windows. En principio, se realizó un análisis con estadística descriptiva para estimar los valores de tendencia central, frecuencias y valores absolutos. La diferencia entre cada periodo de tiempo se estimó mediante la prueba de T de student para

muestras relacionadas considerando un valor de $p < 0.05$ y un intervalo de confianza de 95% como significativo.

La construcción de tablas y gráficos se realizará en IBM SPSS v23.0 para Windows.

3.6. Aspectos éticos

Los aspectos éticos están salvaguardados por los autores que utilizaron los datos únicamente para la investigación. En cumplimiento con la Bioética se respetarán los principios de autonomía, no maleficencia y justicia.

**CAPÍTULO IV:
RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

4.1 Resultados

Se evaluaron 364 pacientes, el total de pacientes que cumplieron con el criterio de inclusión para el estudio fueron 100 (27.4%). El rango de edad fue de entre 19 a 60 años con una media de 33 ± 9.56 años y una mediana de 32 años (IC95% 31.1 a 34.9). La epitome de resultados para AST se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Resultados descriptivos de la evaluación bioquímica de AST en pacientes VIH positivos en el transcurso del tratamiento antirretroviral.

Actividad	Evaluación bioquímica			Diferencia de actividad AST		
	1era	2da	3era	D(2da-1ra)	D(3ra-2da)	D(3era-1ra)
Media	57.2	52.0	48.2	-5.2	-3.8	-9.0
D.S.	61.9	63.2	58.0	61.4	61.7	52.8
Mo	18.2	18.0	25.0	0.0	6.0	N.A.
Md	32.9	33.6	31.7	0.0	-0.4	-1.1
Vmax	355.7	438.5	371.2	304.5	290.9	194.4
Vmin	6.1	5.2	8.2	-312.3	-385.5	-260.6

Fuente Primaria

En la Tabla 1, se refiere la variación según las evaluaciones de AST en paciente VIH positivos, demostrando una variación de alrededor de 9 unidades entre la primer y tercera evaluación sérica. Esta diferencia se refleja en la desviación estándar entre la primera y la tercera evaluación, sin embargo, no se encontró diferencia significativa entre ambos controles ($p=0.821$). No hubo aumento de la actividad del AST en los tres controles tomados a los pacientes con tratamiento antirretroviral por el contrario hubo una disminución de la actividad AST.

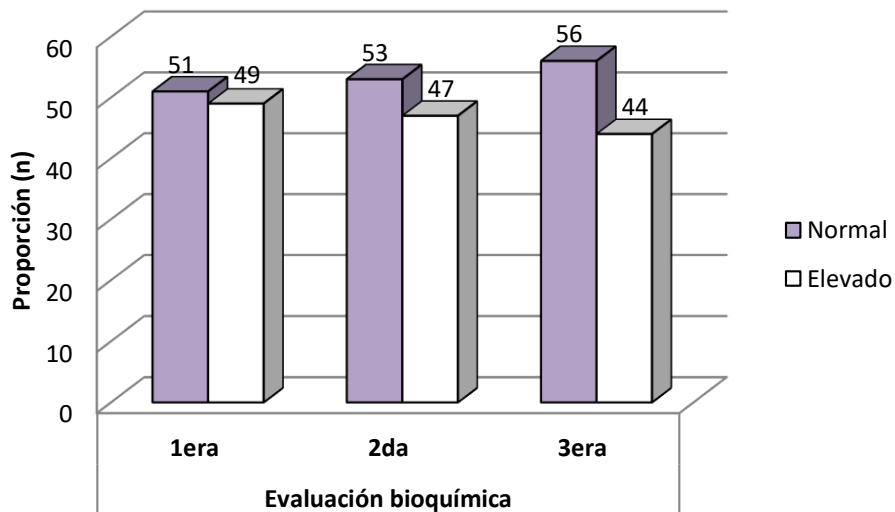
Tabla 2. Distribución porcentual de la variación de AST en pacientes VIH positivos en el transcurso del tratamiento antirretroviral.

VARIACIÓN	Diferencia de actividad AST	
	D(2da-1ra)	D(3RA-2DA)
Subió	45	50
Bajó	50	50
Sin variación	5	0
Total	100	100

Fuente Primaria

La Tabla 2 indica la variación de la actividad AST subió entre la segunda y primer control en un 45%, bajo en un 50% y en el 5 % no hubo variación. Por el contrario, entre el tercer y segundo control subió un 50%; bajo un 50% que representa una falta de variación entre las pruebas. No se hallaron diferencias significativas entre la segunda y primera evaluación, ni entre la tercera y primera evaluación ($p>0.05$).

Figura 1. Distribución de los valores finales de AST en pacientes VIH positivos el transcurso del tratamiento antirretroviral.



Fuente Primaria

La Figura 1 describe la distribución de los AST considerados como normales, es decir los que estuvieron dentro del rango clínico normal, y los elevados fuera del límite normal, desmostándose un valor normal en los tres controles de perfil hepático de pacientes VIH positivos. No se hallaron diferencias significativas entre las evaluaciones para sendos los valores normales y alterados ($p > 0.05$).

Tabla 3. Resultados descriptivos de la evaluación bioquímica de ALT en pacientes VIH positivos en el transcurso del tratamiento antirretroviral..

ESTADÍSTICO	Evaluación bioquímica			Diferencia de actividad TGO		
	1era	2da	3era	D(2da-1ra)	D(3ra-2da)	D(3era-1ra)
Media	50.8	52.1	45.9	1.3	-6.3	-4.9
D.S.	55.3	53.9	48.5	41.8	45.4	55.8
Mo	15.9	22.0	22.0	0.0	9.0	N.A
Md	30.5	32.9	31.6	0.0	0.5	-0.7
Vmax	305.8	358.8	297.7	155.3	264.7	263.1
Vmin	6.1	3.8	4.8	-109.2	-182.3	-202.7

Fuente Primaria

En la Tabla 3, se refiere la variación según las evaluaciones de ALT en paciente VIH positivos, demostrando una variación de alrededor de 5 unidades entre la primer y tercera evaluación sérica. Esta diferencia se refleja en la desviación estándar entre la primera y la tercera evaluación, sin embargo, no se encontró diferencia significativa entre ambos controles ($p=0.076$). No hubo aumento de la actividad del ALT en los tres controles tomados a los pacientes con tratamiento antirretroviral por el contrario hubo una disminución de la actividad ALT.

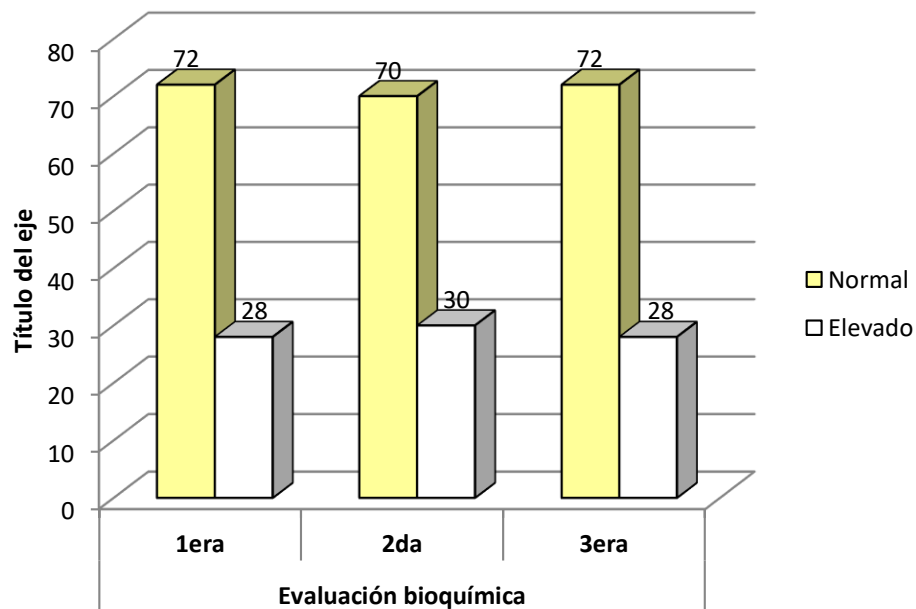
Tabla 4. Distribución porcentual de la variación de ALT en pacientes VIH positivos el transcurso del tratamiento antirretroviral.

VARIACIÓN	Diferencia de actividad ALT	
	D(2da-1ra)	D(3RA-2DA)
Bajó	48	46
Normal	4	1
Subió	48	53
Total	100	100

Fuente Primaria

La Tabla 4 indica que la variación de la actividad ALT subió entre el segundo y primer control en un 48%, bajo en el mismo porcentaje y en el 4% no hubo variación. Por el contrario, entre el tercer y segundo control subió un 53%, bajo en 46% y se mantuvo en 1%. No se hallaron diferencias significativas entre la segunda y primera evaluación, ni entre la tercera y primera evaluación ($p>0.05$).

Figura 2. Distribución de los valores finales de ALT en pacientes VIH positivos el transcurso del tratamiento antirretroviral.



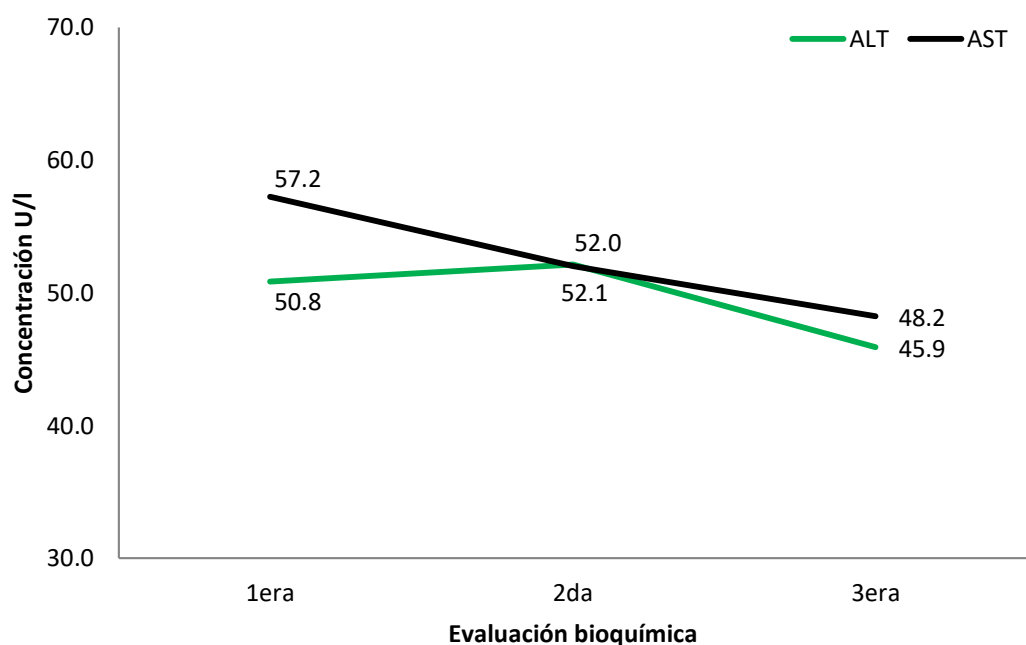
Fuente Primaria

La Figura 2 describe la distribución de la AST considerados como normales, que fueron en todos los casos mayores a 70% frente a los resultados con elevación de AST en pacientes VIH positivos. Se halló una

diferencia significativa entre cada una de las evaluaciones para los valores normales y alterados de AST ($p < 0.05$).

A continuación, se expone en la Figura 3 la distribución de los promedios de ALT y AST durante el periodo de estudio. Ambos tuvieron una reducción entre el primer y tercer control y evidenciaron valores cercanos entre la segunda y tercera evaluación, aunque estas no difirieron significativamente ($p = 0.304$).

Figura 3. Variación de las concentraciones promedio de AST y ALT en pacientes VIH positivos en el transcurso del tratamiento antirretroviral.



Fuente Primaria

Tabla 5. Resultados descriptivos de la evaluación bioquímica de FA en pacientes VIH positivos en el transcurso del tratamiento antirretroviral.

ESTADÍSTICO	Evaluación bioquímica			Diferencia de actividad FA		
	1era	2da	3era	D(2da-1ra)	D(3ra-2da)	D(3era-1ra)
Media	525.8	511.4	455.4	-14.4	-56.0	-70.4
D.S.	951.4	709.2	494.6	480.2	376.4	700.9
Mo	70.0	N/A	89.0	0.0	N/A	N/A
Md	274.6	291.8	290.5	0.1	2.1	0.7
Vmax	8091.9	4618.5	3009.2	1065.4	845.5	1155.8
Vmin	70.0	61.0	59.0	-4070.8	-2648.0	-6038.9

Fuente Primaria

En la Tabla 5, se refiere la variación según las evaluaciones de FA en paciente VIH positivos, demostrando una reducción de los valores entre la primera y tercera evaluación en alrededor 70 unidades séricas para esta magnitud biológica. Se determinó que esta diferencia fue significativa ($p=0.002$) demostrando la reducción de FA en pacientes VIH positivos en el transcurso del tratamiento antirretroviral.

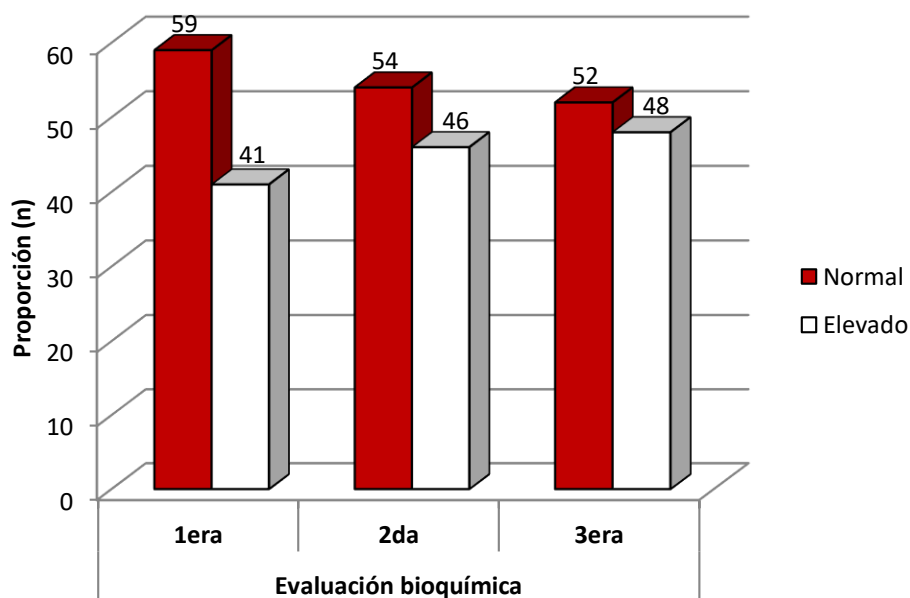
Tabla 6. Distribución porcentual de la variación de FA en pacientes VIH positivos en el transcurso del tratamiento antirretroviral.

VARIACIÓN	Diferencia de actividad FA	
	D(2da-1ra)	D(3ra-2da)
Bajó	44	47
Normal	6	0
Subió	50	53
Total	100	100

Fuente Primaria

La Tabla 6 indica que la variación de la actividad FA subió entre el segundo y primer control en un 50%, bajo en el 44% y se mantuvo invariable en 6%. Respecto a la variación entre la tercera y segundo control la FA se incrementó en un 53% y bajo en 47%. No se hallaron diferencias significativas entre la segunda y primera evaluación, ni entre la tercera y primera evaluación ($p>0.05$).

Figura 4. Distribución de los valores finales de FA en pacientes VIH positivos en el transcurso del tratamiento antirretroviral.



Fuente Primaria

La Figura 4 describe la distribución de la FA considerados como normales, que fueron en todos los casos mayores a 50% frente a los resultados con elevación de FA en pacientes VIH positivos. No se determinó una

diferencia significativa entre cada una de las evaluaciones para los valores normales y alterados de FA ($p>0.05$).

Tabla 7. Resultados descriptivos de la evaluación bioquímica de GGTP en pacientes VIH positivos en el transcurso del tratamiento antirretroviral.

ESTADÍSTICO	Evaluación bioquímica			Diferencia de actividad GGTP		
	1era	2da	3era	D(2da-1ra)	D(3ra-2da)	D(3era-1ra)
Media	138.2	158.8	139.6	20.6	-19.2	1.4
D.S.	273.1	284.2	231.1	88.3	140.8	135.8
Mo	18.6	42.6	22.0	0.0	2.0	N/A
Md	51.9	64.1	70.3	2.9	2.5	6.0
Vmax	2053.0	2081.1	2053.0	679.5	218.1	269.6
Vmin	7.3	8.5	9.0	-133.4	-1151.5	-1147.8

Fuente Primaria

En la Tabla 7, se refiere la variación según las evaluaciones de GGTP en paciente VIH positivos, demostrando una reducción de los valores entre la primera y tercera evaluación en alrededor 1.4 unidades séricas para esta magnitud biológica, y un incremento entre el primer control y el segundo ($p=0.552$). No se determinó una diferencia significativa entre el primer y el tercer valor ($p=0.002$) demostrando la reducción de GGTP en pacientes VIH positivos en el transcurso del tratamiento antirretroviral.

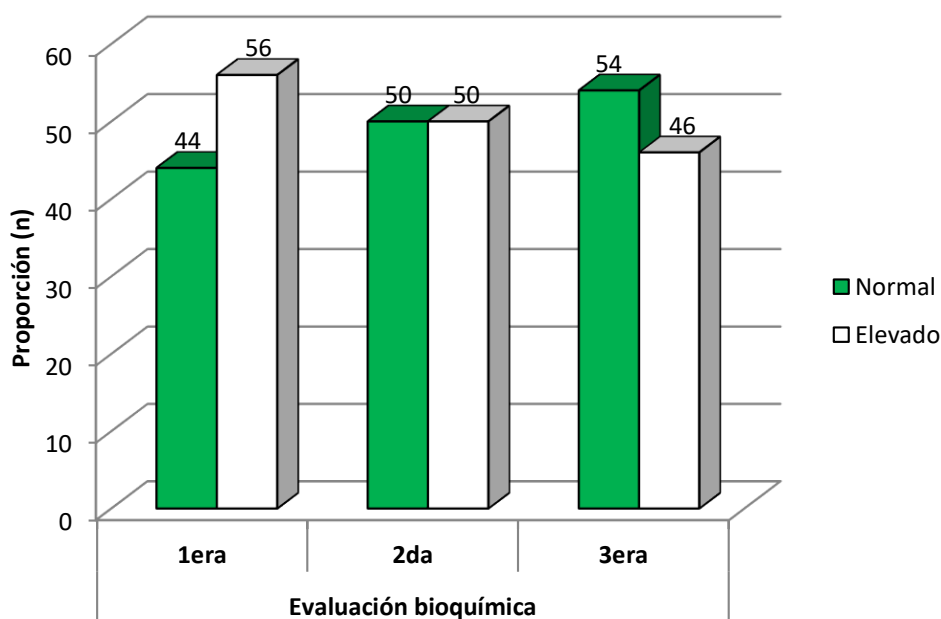
Tabla 8. Distribución porcentual de la variación de GGTP en pacientes VIH positivos en el transcurso del tratamiento antirretroviral.

VARIACIÓN	Diferencia de actividad GGTP	
	D(2da-1ra)	D(3RA-2DA)
Bajó	58	62
Normal	7	0
Subió	35	38
Total	100	100

Fuente Primaria

La Tabla 8 indica que la variación de la actividad GGTP entre la segunda y la primera evaluación disminuyó en 58%, incrementándose en 35% y continuando invariable en 7%. En el mismo sentido, la variación entre la tercera y segunda evaluación disminuyendo en 62%, y en 38% se incrementó. No se hallaron diferencias significativas entre la segunda y primera evaluación, ni entre la tercera y primera evaluación ($p > 0.05$).

Figura 5. Distribución de los valores finales de GGTP en pacientes VIH positivos en el transcurso del tratamiento antirretroviral.



Fuente Primaria

La Figura 5 presenta la distribución de la GGTP considerados como normales, demostrando diferencias entre las evaluaciones. En la primera evaluación se muestra que 56% tuvieron GGTP elevado, mientras que en el segundo control 50% tuvo valores elevados de GGTP. En la tercera evaluación de los pacientes VIH positivos el 46% presento un GGTP elevado mientras que 54 presento valores normales. En todas las comparaciones de esta magnitud biológica no se hallaron diferencia significativa ($p > 0.05$).

Tabla 9. Resultados descriptivos de la evaluación bioquímica de PT en pacientes VIH positivos en el transcurso del tratamiento antirretroviral.

ESTADÍSTICO	Evaluación bioquímica			Diferencia de actividad PT		
	1era	2da	3era	D(2da-1ra)	D(3ra-2da)	D(3era-1ra)
Media	7.4	7.6	7.5	0.2	-0.1	0.1
D.S.	2.2	2.0	2.1	1.2	1.2	1.6
Mo	8.1	7	7.1	0.0	0.0	0.2
Md	7.5	7.7	7.5	0.1	0.0	0.1
Vmax	23.8	19.5	19.0	3.6	3.2	4.7
Vmin	2.9	3.0	3.0	-4.4	-4.5	-4.8

Fuente Primaria

En la Tabla 9, se refiere la variación según las evaluaciones de PT en paciente VIH positivos, demostrando un mantenimiento en los valores séricos de FA (dentro de 7.5 gr/dl) durante los tres controles ($p>0.05$).

Tabla 10. Distribución porcentual de la variación de PT en el transcurso del tratamiento antirretroviral.

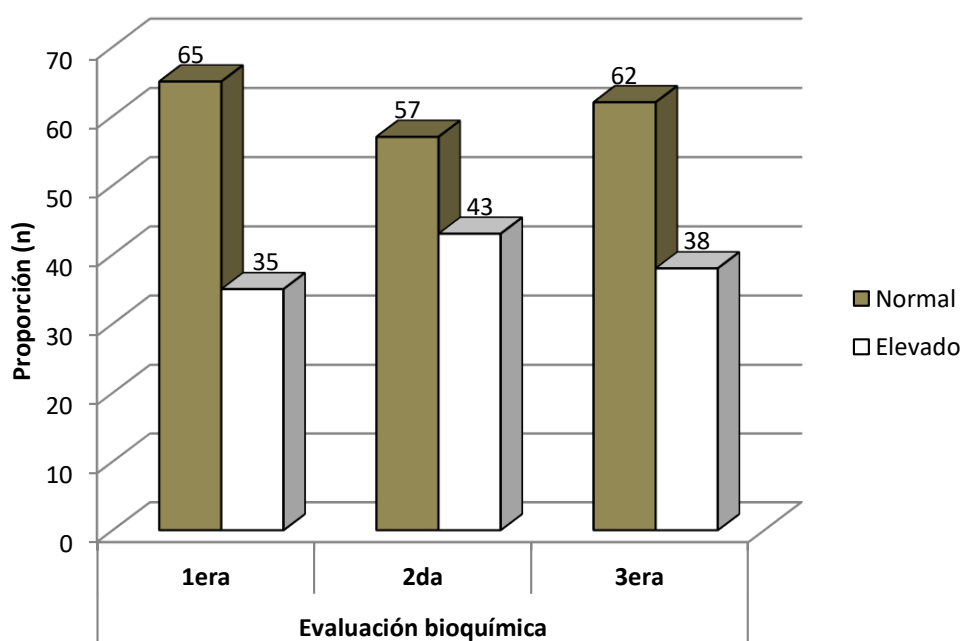
VARIACIÓN	Diferencia de actividad PT	
	D(2da-1ra)	D(3RA-2DA)
Bajó	52	44
Normal	10	4
Subió	38	52
Total	100	100

Fuente Primaria

La Tabla 10 indica que la variación de la actividad PT entre la segunda y la primera evaluación se incrementó en 38%, se redujo en 52% y se mantuvo invariable en 10%. Entre la tercera y segunda evaluación 52% de los pacientes tuvieron incremento en PT, 44% presentaron reducción

Y 4% no tuvieron variación. No se hallaron diferencias significativas entre la segunda y primera evaluación, ni entre la tercera y primera evaluación ($p>0.05$).

Figura 6. Distribución de los valores finales de AST en pacientes VIH positivos en el transcurso del tratamiento antirretroviral.



Fuente Primaria

La Figura 6 describe la distribución de los resultados elevados y normales de PT donde para todas las evaluaciones los pacientes presentaron valores normales en \geq de 57%. No se determinó una diferencia significativa entre cada una de las evaluaciones para los valores normales y alterados de PT ($p>0.05$).

Tabla 11. Diferencia entre mediciones de AST, ALT, GGT, PT, FA según edad. Data en n.

Diferencia de mediciones	Valor	Edad (años)			
		18 - 30 (n=45)	31 - 40 (n=39)	41 - 50 (n=10)	≥ 51 (n=6)
AST D(2da-1ra)	Bajo	20	20	6	3
	Normal	3	1	1	0
	Alto	22	18	3	3
AST D(3ra-2da)	Bajo	24	20	5	2
	Normal	0	0	0	0
	Alto	21	19	5	4
ALT D(2da-1ra)	Bajo	21	19	5	3
	Normal	3	1	0	0
	Alto	21	19	5	3
ALT D(3ra-2da)	Bajo	20	22	8	2
	Normal	0	1	0	0
	Alto	25	16	2	4
FA D(2da-1ra)	Bajo	21	19	2	3
	Normal	3	2	1	0
	Alto	21	18	7	3
FA D(3ra-2da)	Bajo	21	21	2	3
	Normal	0	0	0	0
	Alto	24	18	8	3
GGT D(2da-1ra)	Bajo	10	15	6	4
	Normal	1	6	0	0
	Alto	34	18	4	2
GGT D(3ra-2da)	Bajo	14	14	6	4
	Normal	0	0	0	0
	Alto	31	25	4	2
PT D(2da-1ra)	Bajo	23	9	4	2
	Normal	2	6	1	1
	Alto	20	24	5	3
PT D(3ra-2da)	Bajo	23	19	6	4
	Normal	2	1	0	1
	Alto	20	19	4	1

La Tabla 11 muestra las variaciones de los marcadores hepáticos según grupo etario, demostrando variaciones de incremento y disminución de todos los marcadores y que el rango etario de 18 - 30 (n=45) y 31 - 40 (n=39) fueron los más frecuentes.

Tabla 12. Diferencia entre mediciones de AST, ALT, GGT, PT, FA según sexo. Data en n.

Diferencia de mediciones	Valor	Sexo	
		Varón (n=67)	Mujer (n=33)
AST D(2da-1ra)	Bajo	36	13
	Normal	3	2
	Alto	28	18
AST D(3ra-2da)	Bajo	36	15
	Normal	0	1
	Alto	31	17
ALT D(2da-1ra)	Bajo	33	15
	Normal	3	1
	Alto	31	17
ALT D(3ra-2da)	Bajo	34	12
	Normal	1	0
	Alto	32	21
FA D(2da-1ra)	Bajo	27	17
	Normal	4	2
	Alto	36	14
FA D(3ra-2da)	Bajo	30	17
	Normal	0	0
	Alto	37	16
GGT D(2da-1ra)	Bajo	21	14
	Normal	5	2
	Alto	41	17
GGT D(3ra-2da)	Bajo	26	12
	Normal	0	0
	Alto	41	21
PT D(2da-1ra)	Bajo	27	11
	Normal	8	2
	Alto	32	20
PT D(3ra-2da)	Bajo	36	16
	Normal	2	2
	Alto	29	15

La Tabla 12 muestra las variaciones de los marcadores hepáticos según grupo etario, demostrando variaciones de incremento y disminución de

todos los marcadores para ambos sexos. Asimismo, el sexo masculino fue el más frecuente (67 pacientes).

4.2 Discusión

El estudio tuvo como objetivo variación del perfil bioquímico hepático en el transcurso del tratamiento antirretroviral en muestras séricas VIH positivos en un hospital nacional de Lima, 2015 – 2017, demostrando una reducción de enzimas hepáticas como ALT, AST, y FA entre los controles serológicos.

Para el caso de ALT y AST, estudio previo realizados por Sunny et al., en India han demostrado incrementos significativos de en la concentración de ALT, pero no AST.¹³ Otros estudios han catalogado de vital importancia, casi corroborando estos resultados, las variaciones de ALT como predictor de enfermedad subyacente relacionada con la infección por VIH en diversos grupos poblacionales.^{11,12} En ese sentido, se ha considerado como marcador altamente correlacionable a ALT con hepatotoxicidad y fibrosis hepática en estos pacientes.

Nuestros resultados evidenciaron una reducción en esta magnitud biológica entre el primer control y el tercer control. Esta diferencia podría deberse a múltiples variables como el seguimiento del TARGA en las cohortes de pacientes analizados, esto dado que se ha sido atribuido la hepatotoxicidad y hepatopatía con el tipo de tratamiento que están usando los pacientes y al tiempo de uso.^{12,14} Se ha demostrado el gran impacto para la homeostasis hepática de algunos antiretrovirales.⁴⁴

Otros aspectos de discordancia podrían deberse ser el estatus inmunológico de los pacientes. Existen diferencias entre pacientes con

una viremia controlada y un recuento de linfocitos T CD4+ normal a elevado, ya que la respuesta frente a posibles agresores en estos pacientes es más probable y por lo tanto la protección inmune frente a agente hepatotóxicos o a otras condiciones desencadenantes de enfermedad hepática (como infección por los virus de hepatitis) puede ser más eficaz. Sin embargo, en el mundo entero, la prevalencia de infección por VIH y Hepatitis C está documentada en ~85%.⁴⁵ La infección por este agente viral ARN no solo puede comprometer el estado inmunológico global, si no que puede afectar la función hepática de estos pacientes, que ya de por su usan medicamentos antivirales con reacciones adversas a nivel hepático.⁴⁶

Los otros componentes evaluados como PT y GGTP han demostrado mantenerse constantes en las diferentes etapas de control. Estudios previos no han hallado diferencias en estos marcadores en pacientes con infección por VIH y por tanto concuerdan con los hallazgos planteados en este estudio.^{13,14}

Las anormalidades de la prueba de función hepática son ampliamente prevalentes en personas VIH positivos o con SIDA, y se han reportado en entre 20 y 93%.^{13,47} De hecho, las enfermedades hepáticas representan casi el 14-18% de todas las muertes en pacientes con SIDA.⁴⁵ Se deben entonces de considerar intervenciones de prevención de la salud para evitar complicaciones futuras y agravar ya el estado inmunocomprometido de los pacientes VIH positivos. Estos pacientes al tener la posibilidad de co-infecciones³ tienen a reducir su adherencia al TARGA, por el exceso y reacción adversas al complejo grupo de medicamentos que incluye gran

parte de las veces medicamentos antituberculosos, antineoplásios, hipocolesteroleticos, entre otros. O, también, los cursos de la enfermedad con resistencia del VIH a las primeras líneas de acción terapéutica de TARGA frente a esta enfermedad. Si a esto le sumamos, la posibilidad de complicaciones hepáticas, con el advenimiento de cuidado extra y tratamiento de prevención o de control de la función hepática, es probable que los pacientes dejen de usar TARGA en detrimento de su salud.

Al conocer las variaciones de los parámetros hepáticos, nos permite como profesionales de la salud interesarnos en los cambios circunstanciales de la salud general de los pacientes VIH positivos, a fin de promover prácticas de prevención y promoción relacionadas con la salud hepática tan necesaria para el correcto funcionamiento de ambos, el TARGA y el individuo personal.

CAPÍTULO V:

CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIÓN

5.1. Conclusión

Se concluye que:

- Existe una variación del perfil bioquímico hepático en el transcurso del tratamiento antirretroviral en muestras séricas VIH positivos en un hospital nacional de Lima, 2015 – 2017.
- Se determinó una reducción de la actividad Amino Aspartato Transferasa (AST) en el transcurso del tratamiento antirretroviral en muestras séricas VIH positivos en un hospital nacional de Lima, 2015 – 2017, entre el primer y tercer control.
- Se determinó una reducción de la actividad Alanina Amino Transferasa (ALAT) en el transcurso del tratamiento antirretroviral en muestras séricas VIH positivos en un hospital nacional de Lima, 2015 – 2017, entre el primer y tercer control.
- Se estableció una disminución de la actividad Fosfatasa Alcalina (FA) en el transcurso del tratamiento antirretroviral en muestras séricas VIH positivos en un hospital nacional de Lima, 2015 – 2017, entre el primer y tercer control.

- No se establecieron variaciones en la actividad Gamma - Glutamil Transpeptidasa (GGT) en el transcurso del tratamiento antirretroviral en muestras séricas VIH positivos en un hospital nacional de Lima, 2015 – 2017.
- No se determinaron cambios en la actividad Proteínas Totales en el transcurso del tratamiento antirretroviral en muestras séricas VIH positivos en un hospital nacional de Lima, 2015 – 2017.

5.2. Recomendaciones

- Se realicen evaluaciones más extensas incluyendo otros pacientes en una cohorte de tiempo para estimar con mayor certeza las variaciones de los marcadores séricos de función hepática.
- Se realicen evaluaciones de casos y controles para estimar las variaciones y la magnitud de los cambios serológicos del perfil hepático en pacientes VIH positivos.
- Se establezcan correlaciones de los esquemas de tratamiento TARGA y las variaciones de los marcadores serológicos hepáticos a fin de conocer su impacto en la salud de los pacientes VIH positivos.

6. REFERENCIAS

1. Miranda O, Nápoles M. Historia y teorías de la aparición del virus de la inmunodeficiencia humana. *Rev Cub Med Mil.* 2009; 38(3-4): 63-72.
2. Boza R, Nápoles M. Orígenes del VIH / SIDA. *Rev Clín Escuela Medicina UCR.* 2016; 6(4): 48-60.
3. Moya-Salazar J, Salazar-Hernández R, Rojas-Zumaran V, Quispe MWC. Fungal infections in HIV Peruvian patients: analysis of cases in the context of Venezuelan migration. *J Infectiol* 2019; 2(2): 3-10.
4. Yang X, Xia G, Li X, Latkin C, Celentano D. Social Influence and Individual Risk Factors of HIV Unsafe Sex among Female Entertainment Workers in China. *AIDS Educ Prev.* 2010; 22(1): 69–86.
5. Organización Mundial de la Salud. Estrategia Mundial del Sector de la Salud contra el VIH 2016–2021 hacia el fin del sida. Geneva: OMS; 2016.
6. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. Data 2018. Geneva: UNAIDS; 2018.
7. Rondan P, Flores O, Doria N, Valencia G, Chávez V, Soria J. Elevada frecuencia de dislipidemia en pacientes infectados por VIH en un hospital público peruano. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2017; 34 (2): 239-244.
8. Ioannou G.N., Boyko E.J., Lee S.P. The prevalence and predictors of elevated serum aminotransferase activity in the United States in 1999–2002. *Am J Gastroenterol.* 2006;101:76–82.
9. Sterling RK, Chiu S, Snider K, Nixon D. The prevalence and risk factors for abnormal liver enzymes in HIV-positive patients without hepatitis B or C coinfections. *Dig Dis Sci.* 2008;53:1375–1382.
10. Logna PL, Roccarina D, Lever R, Lombardi R, Rodger A, Hall A, et al. Etiology and Severity of Liver Disease in HIV-Positive Patients With Suspected NAFLD Lessons From a Cohort With Available Liver Biopsies. *JAIDS* 2019; 80(4): 474–480.
11. Mohite AR, Gambhire PA, Pawar SV, Jain SS, Contractor QQ, Rathi PM. Changing clinical profile and factors associated with liver enzyme abnormalities among HIV-infected persons. *Trop Doct.* 2017; 47(3):205-211.
12. Lombardi R, Lever R, Smith C, Marshall N, Rodger A, Bhagani S, et al. Liver test abnormalities in patients with HIV mono-infection: assessment with simple noninvasive fibrosis markers. *Ann Gastroenterol.* 2017;30(3):349-356.

13. Sunny PM, Navjyot KSL, Sandeep KM, Sashindran MVK, Pankaj PB. A cross-sectional study of liver function tests in HIV-infected persons in Western India. *Med J Armed Forces India*. 2017; 73(1): 23–28.
14. Pokorska-Śpiewak M, Stańska-Perka A, Popielska J, Ołdakowska A, Coupland U, Zawadka K, et al. Prevalence and predictors of liver disease in HIV-infected children and adolescents. *Sci Rep*. 2017;7(1):12309.
15. United N. Global Report 2012: Unaided Report on the Global AIDS Epidemic: United Nations Pub; 2013.
16. Cohen MS, Chen YQ, McCauley M, Gamble T, Hosseinipour MC, Kumarasamy N, et al. Prevention of HIV-1 infection with early antiretroviral therapy. *N Engl J Med* 2011,365:493-505.
17. Braitstein P, Brinkhof MW, Dabis F, Schechter M, Boule A, Miotti P, et al. Mortality of HIV-1-infected patients in the first year of antiretroviral therapy: comparison between low-income and high-income countries. *Lancet* 2006,367:817-824.
18. Collaboration H-C, Ray M, Logan R, Sterne JA, Hernandez-Diaz S, Robins JM, et al. The effect of combined antiretroviral therapy on the overall mortality of HIV-infected individuals. *AIDS* 2010,24:123-137.
19. Mauro Z, Federica F, Patrizia L, Francesca CS, Valerio T, Paola TM, et al. Continuous evidence of fast HIV disease progression related to class-wide resistance to antiretroviral drugs: a 6 year follow-up analysis of a large observational database. *AIDS* 2007,21:1824-1826.
20. Zaccarelli M, Tozzi V, Lorenzini P, Trotta MP, Forbici F, Visco-Comandini U, et al. Multiple drug class-wide resistance associated with poorer survival after treatment failure in a cohort of HIV-infected patients. *AIDS* 2005,19:1081-1089.
21. Krentz HB, Ko K, Beckthold B, Gill MJ. The cost of antiretroviral drug resistance in HIV-positive patients. *Antivir Ther* 2013.
22. Johnson VA, Calvez V, Gunthard HF, Paredes R, Pillay D, Shafer RW, et al. Update of the drug resistance mutations in HIV-1: March 2013. *Top Antivir Med* 2013,21:6-14.
23. Gilks CF, Crowley S, Ekpini R, Gove S, Perriens J, Souteyrand Y, et al. The WHO public-health approach to antiretroviral treatment against HIV in resource-limited settings. *Lancet* 2006,368:505-510.
24. Shattock, R.J. and J.P. Moore, Inhibiting sexual transmission of HIV-1 infection. *Nat Rev Microbiol*. 2003; 1(1): 25-34.

25. Grossman Z, Meier-Schellersheim M, Paul WE, Picker LJ. Pathogenesis of HIV infection: what the virus spares is as important as what it destroys. *Nat Med*, 2006; 12(3):289-295.
26. Liu Y, Liu H, Kim BO, Gattone VH, Li J, Nath A, Blum J, He JJ. CD4-Independent Infection of Astrocytes by Human Immunodeficiency Virus Type 1: Requirement for the Human Mannose Receptor. *J Virol*. 2004; 78(8):4120-33.
27. Chen P, Chen BK, Mosoian A, Hays T, Ross MJ, Klotman PE, Klotman ME. Virological Synapses Allow HIV-1 Uptake and Gene Expression in Renal Tubular Epithelial Cells. *J Am Soc Nephro*, 2011;22:496-507.
28. Hunt P, Brenchley J, Sinclair E, McCune JM, Roland M, Page-Shafer K, et al. Relationship between T Cell Activation and CD4 T Cell Count in HIV Seropositive Individuals with Undetectable Plasma HIV RNA Levels in the Absence of Therapy. *J Infect Dis*. 2007; 197: 126-33.
29. Coyle TE. Hematologic complications of human immunodeficiency virus infection and the acquired immunodeficiency syndrome. *Med Clin North Am*, 1997; 81(2): 449-70.
30. Zon LI, Arkin C, Groopman JE. Haematologic manifestations of the human immune deficiency virus (HIV). *Brit J Haematol*. 1987; 66(2): 251-256.
31. Fauci AS, et al. Host factors and the pathogenesis of HIV-induced disease. *Nature* 1996; 384(6609): 529-534.
32. Hernández J, Martínez F, Vázquez M. *Básicos del VIH*. 2nd ed. Barcelona: El Ateneo; 2016.
33. Eckert DM, Kim PS. Mechanisms of viral membrane fusion and its inhibition. *Ann Rev Biochem* 2001;70:777-810.
34. Karmen A, Wroblewski F, Ladue JS. Transaminase activity in human blood". *J Clin Invest*. 1955; 34(1): 126–31.
35. McDonagh AF, Palma LA, Lightner DA. Blue Light and Bilirubin Excretion. *Science*. 1990; 208 (4440): 145–151.
36. Whitfield JB. Gamma glutamyl transferase. *Crit Rev Clin Laborat Sciences*. 2001; 38(4): 263–355.
37. Berk P, Korenblat K. Approach to the patient with jaundice or abnormal liver tests. In: Goldman L, Schafer AI, Eds. *Cecil Medicine*. 24th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2011.
38. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Procedures For The Collection Of Diagnostic Blood Specimens By Venipuncture; Approved Standard-Sixth Edition*. CLSI H3-A6. Wayne, Pennsylvania:
39. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007.

40. Mæhre HK, Dalheim L, Edvinsen GK, Ellevoll EO, Jensen. Protein Determination—Method Matters. *Foods*. 2018; 7(1): 5.

ANEXOS

Anexo 1

ARCHITECT / AEROSET





ASPARTATE AMINOTRANSFERASE

This package insert contains information to run the Aspartate Aminotransferase assay on the ARCHITECT c Systems and the AEROSET System.

NOTE: This package insert must be read carefully prior to product use. Package insert instructions must be followed accordingly. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this package insert.

Customer Support

United States: 1-877-4ABBOTT
 Canada: 1-800-387-8378 (English speaking customers)
 1-800-465-2675 (French speaking customers)
 International: Call your local Abbott representative

Symbols in Product Labeling			
CONC	Concentration	R2	Reagent 2
CONT	Contents of kit	REF	Catalog number/List number
EC REP	Authorized Representative in the European Community	SN	Serial number
INGRED	Ingredients		Consult instructions for use
IVD	In vitro diagnostic medical device		Manufacturer
LOT	Batch code / Lot number		Temperature limitation
R1	Reagent 1		Use by/Expiration date

NAME

ALANINE AMINOTRANSFERASE

INTENDED USE

The Alanine Aminotransferase (ALT) assay is used for the quantitation of alanine aminotransferase in human serum or plasma.

SUMMARY AND EXPLANATION OF TEST

Alanine Aminotransferase (ALT), also referred to as glutamate pyruvate transaminase (GPT), is an enzyme involved in amino acid metabolism. It is found in many tissues, but the highest levels are found in liver and kidney tissues. Tissue destruction leads to the release of the intracellular enzyme into the circulating blood. Markedly elevated serum ALT levels may be found in a variety of diseases which involve the liver, such as hepatitis, mononucleosis, and cirrhosis. These very high levels of ALT are not usually observed in other disease processes, e.g., myocardial infarction; thus, ALT is regarded as a reasonably specific indicator of liver disease.

PRINCIPLES OF PROCEDURE

ALT present in the sample catalyzes the transfer of the amino group from L-alanine to α -ketoglutarate, forming pyruvate and L-glutamate. Pyruvate in the presence of NADH and lactate dehydrogenase (LD) is reduced to L-lactate. In this reaction NADH is oxidized to NAD. The reaction is monitored by measuring the rate of decrease in absorbance at 340 nm due to the oxidation of NADH to NAD.

Methodology: NADH (without P-5'-P)

REAGENTS

Reagent Kit

[REF] 7D56-21 ALT is supplied as a liquid, ready-to-use, two-reagent kit which contains:

[R1]	10 x 70 mL
[R2]	10 x 21 mL

Estimated tests per kit 3,621

Calculation is based on the minimum reagent fill volume per kit.

Reactive Ingredients	Concentration
[R1] β -NADH	0.16 mg/mL
Lactate dehydrogenase	2.57 U/mL
L-Alanine	392 mmol/L
[R2] α -Ketoglutaric acid	77 mmol/L
L-alanine	1,000 mmol/L

REAGENT HANDLING AND STORAGE

Reagent Handling

Remove air bubbles, if present in the reagent cartridge, with a new applicator stick. Alternatively, allow the reagent to sit at the appropriate storage temperature to allow the bubbles to dissipate. To minimize volume depletion, do not use a transfer pipette to remove the bubbles.

CAUTION: Reagent bubbles may interfere with proper detection of reagent level in the cartridge, causing insufficient reagent aspiration which could impact results.

Reagent Storage

Unopened reagents are stable until the expiration date when stored at 2 to 8°C.

Reagent stability is 27 days if the reagent is uncapped and onboard.

Indications of Deterioration

Instability or deterioration should be suspected if there are precipitates, visible signs of leakage, extreme turbidity, microbial growth, if calibration does not meet the appropriate package insert and/or ARCHITECT System Operations Manual criteria, or if controls do not meet the appropriate criteria.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

Precautions for Users

- **[IVD]**
- For *In Vitro* Diagnostic Use.
- Do not use components beyond the expiration date.
- Do not mix materials from different kit lot numbers.
- **CAUTION:** This product requires the handling of human specimens. It is recommended that all human sourced materials be considered potentially infectious and be handled in accordance with the OSHA Standard on Bloodborne Pathogens.¹ Biosafety Level 2² or other appropriate biosafety practices^{3,4} should be used for materials that contain or are suspected of containing infectious agents.
- Safety Data Sheets are available at www.abbottdiagnostics.com or contact your local representative.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

Suitable Specimens

Serum and plasma are acceptable specimens.

CAUTION: Erythrocytes contain approximately 3 to 5 times more ALT than does serum.⁵

Hemolysis in serum or plasma can increase test results.

- **Serum:** Use serum collected by standard venipuncture techniques into glass or plastic tubes with or without gel barriers. Ensure complete clot formation has taken place prior to centrifugation. Centrifuge according to tube manufacturer's instructions to ensure proper separation of serum from blood cells.
Some specimens, especially those from patients receiving anticoagulant or thrombolytic therapy, may take longer to complete their clotting processes. Fibrin clots may subsequently form in these sera and the clots could cause erroneous test results.
- **Plasma:** Use plasma collected by standard venipuncture techniques into glass or plastic tubes. Refer to table below for acceptable anticoagulants. Ensure centrifugation is adequate to remove platelets. Centrifuge according to tube manufacturer's instructions to ensure proper separation of plasma from blood cells.

For total sample volume requirements, refer to the ASSAY PARAMETERS section of this package insert and Section 5 of the ARCHITECT System Operations Manual.

Analyte Recovery

Analyte recovery in serum/plasma specimens was determined as a mean %Recovery of serum collected in glass tubes.

Anticoagulant	%Recovery
Lithium heparin (with or without gel barrier)	100.3
Sodium heparin	100.1
EDTA	97.1
Sodium citrate	80.2
Plastic tube/serum	99.9
SST gel tube/serum	100.8

Do not use ammonium heparin.⁶

Specimen Storage

Serum and Plasma: It is recommended that specimens be assayed on the day of collection.^{7,8} Separated specimens are stable for 3 days at 30°C, 7 days at 2 to 8°C, or 60 days at -40°C or colder.^{5,9-17} When samples were stored at -20°C for 8 days, an 11% reduction in ALT activity was observed; a 20% reduction in ALT activity was observed when specimens were stored at -20°C for 1 month.¹⁶

NOTE: Stored specimens must be inspected for particulates. If present, mix and centrifuge the specimen to remove particulates prior to testing.

PROCEDURE

Materials Provided

[REF] 7D56 ALT Reagent Kit

Materials Required but not Provided

- Control Material
- Saline (0.85% to 0.90% NaCl) for specimens that require dilution

Assay Procedure

For a detailed description of how to run an assay, refer to *Section 5* of the ARCHITECT System Operations Manual.

Specimen Dilution Procedures

The ARCHITECT cSystems have an automatic dilution feature; refer to *Section 2* of the ARCHITECT System Operations Manual for additional information.

Serum and Plasma: Specimens with ALT values exceeding 942 U/L (4,113 U/L for Flex Rate Linearity) are flagged and may be diluted by following either the Automated Dilution Protocol or the Manual Dilution Procedure.

Automated Dilution Protocol

If using the Automated Dilution Protocol, the system performs a 1:5 dilution of the specimen and automatically corrects the concentration by multiplying the result by the appropriate dilution factor.

Manual Dilution Procedure

Manual dilutions should be performed as follows:

- Use saline (0.85% to 0.90% NaCl) to dilute the sample.
- The operator must enter the dilution factor in the patient or control order screen. The system uses this dilution factor to automatically correct the concentration by multiplying the result by the entered factor.
- If the operator does not enter the dilution factor, the result must be multiplied by the appropriate dilution factor before reporting the result.

NOTE: If a diluted sample result is flagged indicating it is less than the linear low limit, do not report the result. Rerun using an appropriate dilution. For detailed information on ordering dilutions, refer to *Section 5* of the ARCHITECT System Operations Manual.

CALIBRATION

Calibration is stable for approximately 27 days (648 hours) and is required with each change in reagent lot number. Verify calibration with at least two levels of controls according to the established quality control requirements for your laboratory. If control results fall outside acceptable ranges, recalibration may be necessary.

A calibration factor must be entered on the **Configure assay parameters** window, **Calibration** view. Refer to the ASSAY PARAMETERS section of this package insert for the specific factor.

For a detailed description of how to calibrate an assay, refer to *Section 6* of the ARCHITECT System Operations Manual.

QUALITY CONTROL

The following is the recommendation of Abbott Laboratories for quality control. As appropriate, refer to your laboratory standard operating procedure(s) and/or quality assurance plan for additional quality control requirements and potential corrective actions.

- Two levels of controls (normal and abnormal) are to be run every 24 hours.
- If more frequent control monitoring is required, follow the established quality control procedures for your laboratory.
- If quality control results do not meet the acceptance criteria defined by your laboratory, patient values may be suspect. Follow the established quality control procedures for your laboratory. Recalibration may be necessary.
- Review quality control results and acceptance criteria following a change of reagent lot.

RESULTS

Refer to *Appendix C* of the ARCHITECT System Operations Manual for information on results calculations.

Representative performance data are given in the EXPECTED VALUES and SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS sections of this package insert. Results obtained in individual laboratories may vary.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Refer to the SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING and SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS sections of this package insert.

EXPECTED VALUES

Reference Range

Serum^{19,20}/Plasma

	Range (U/L)
Adult	0 to 55

It is recommended that each laboratory determine its own reference range based upon its particular locale and population characteristics.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Linearity

ALT is linear up to 942 U/L.

Flex Rate Linearity is 4,113 U/L. To use Flex Rate Linearity, the operator must edit the linear high value to 4,113 on the **Configure assay parameters** window, **Results** view.

Linearity was verified using Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) protocol NCCLS EP6-P.²¹

Limit of Detection (LOD)

The LOD for ALT is 2.0 U/L. The LOD is the mean concentration of an analyte-free sample + 2 SD, where SD = the pooled, within run standard deviation of the analyte-free sample. A study performed on an ARCHITECT cSystem produced an LOD for ALT of 1.3 U/L.

Limit of Quantitation (LOQ)

The LOQ for ALT is 5.1 U/L. The LOQ is the analyte concentration at which the CV = 20%.

Interfering Substances

Interference studies were conducted using CLSI protocol NCCLS EP7-P.²² Interference effects were assessed by Dose Response and Paired Difference methods, at the medical decision level of the analyte.

Interfering Substance	Interferent Concentration	N	Target (U/L)	Observed (% of Target)
Bilirubin	30 mg/dL (513 µmol/L)	4	53.1	95.3
	60 mg/dL (1,026 µmol/L)	4	53.1	88.1
Hemoglobin	750 mg/dL (7.5 g/L)	4	47.4	107.9
	1,000 mg/dL (10.0 g/L)	4	47.4	111.0
Intralipid	550 mg/dL (5.5 g/L)	4	50.6	97.2
	625 mg/dL (6.25 g/L)	4	50.6	96.8

Bilirubin solutions at the above concentrations were prepared by addition of a bilirubin stock to human serum pools. Hemoglobin solutions at the above concentrations were prepared by addition of hemolysate to human serum pools. Intralipid solutions at the above concentrations were prepared by addition of Intralipid to human serum pools.

Interferences from medications or endogenous substances may affect results.²³

Precision

The imprecision of the ALT assay is ≤ 5.2% Total CV. Representative data from studies using CLSI protocol NCCLS EP5-A²⁴ are summarized below.

Control		Level 1	Level 2
N		80	80
Mean (U/L)		29.9	82.8
Within Run	SD	0.44	0.39
	%CV	1.5	0.5
Between Run	SD	0.38	0.54
	%CV	1.3	0.7
Between Day	SD	1.43	1.51
	%CV	4.8	1.8
Total	SD	1.55	1.65
	%CV	5.2	2.0

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS (Continued)

Method Comparison

Correlation studies were performed using CLSI protocol NCCLS EP9-A.²⁵

Serum results from the ALT assay on the AEROSSET System were compared with those from a commercially available NADH oxidation methodology.

Serum results from the ALT assay on an ARCHITECT cSystem were compared with the ALT assay on the AEROSSET System.

	AEROSSET vs. Comparative Method	ARCHITECT vs. AEROSSET
N	74	83
Y - Intercept	-4.356	-3.683
Correlation Coefficient	0.989	1.000
Slope	0.870	0.940
Range (U/L)*	4.8 to 130.0	7.0 to 3,935.2

*AEROSSET Range

BIBLIOGRAPHY

1. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. *Bloodborne Pathogens*.
2. US Department of Health and Human Services. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, 5th ed. Washington, DC: US Government Printing Office, December 2009.
3. World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual*, 3rd ed. Geneva: World Health Organization, 2004.
4. Sewell DL, Bove KE, Callihan DR, et al. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline—Third Edition (M29-A3)*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
5. Henry RJ, Cannon DC, Winkelman JW. *Clinical Chemistry Principles and Technics*, 2nd ed. Hagerstown, MD: Harper and Row; 1974:888.
6. Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1994:795–7.
7. Williams K, Williams A, Kline L, et al. Stability of serum alanine aminotransferase activity. *Transfusion* 1987;27(5):431–3.
8. Cuccherini B, Nussbaum S, Seeff L, et al. Stability of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase activities. *J Lab Clin Med* 1983;102(3):370–6.
9. Ruby SG, Relber NE, Lonser RE. Preanalytical variation in alanine aminotransferase. *Clin Chem* 1988;34(4):744–5.
10. Heins M, Heil W, Withold W. Storage of serum and whole blood samples? Effects of time and temperature on 22 serum analytes. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1995;33:231–8.
11. Dale JC, Pruett SK. Phlebotomy—a minimalist approach. *Mayo Clin Proc* 1993;68(3):249–55.
12. Young D. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*, 2nd ed. Washington, DC: AACC Press; 1997:3–12.
13. Elfath D, Cooney J, McDaniel R, et al. Effect of frozen storage of serum on the level of 22 chemistry analytes. *Clin Chem* 1991;37:931.
14. Faulkner AM, Lukes-Hall AM, White GW. Evaluation of the Grenier plasma separator blood tube. *Ann Clin Biochem* 1990;27:386–7.
15. Wilding P, Zilva JA, Wilde CE. Transport of specimens for clinical chemistry analysis. *Ann Clin Biochem* 1977;14:301–6.
16. Schwartz MK. Interferences in diagnostic biochemical procedures. *Adv Clin Chem* 1973;16:10.
17. Mosley JW, Goodwin RF. Stability of serum glutamic pyruvic transaminase activity on storage. *Am J Clin Pathol* 1985;44:591–5.
18. Donnelly JG, Soldin SJ, Nealon DA, et al. Stability of twenty-five analytes in human serum at 22°C, 4°C, and -20°C. *Pediatr Pathol Lab Med* 1995;15:869–74.
19. Kaplan LA, Pesce AJ, editors. *Clinical Chemistry Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. St Louis, MO: CV Mosby; 1989:895–8.
20. Sherman KE, Dodd RY, et al. Alanine aminotransferase levels among volunteer blood donors: geographic variation and risk factors. *J Infect Dis* 1982;145(3):383–6.
21. Passey RB, Bee DE, Caffo A, et al. *Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods; Proposed Guideline (EP6-P)*. Villanova, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1986.

BIBLIOGRAPHY (Continued)

22. Powers DM, Boyd JC, Glick MR, et al. *Interference Testing in Clinical Chemistry; Proposed Guideline (EP7-P)*. Villanova, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1986.
23. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995:3–6–3–16.
24. Kennedy JW, Carey RN, Coolen RB, et al. *Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (EP5-A)*. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999.
25. Kennedy JW, Carey RN, Coolen RB, et al. *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline (EP9-A)*. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1995.

TRADEMARKS

The ARCHITECT cSystem family of instruments consists of c4000, c8000, and c16000 instruments.

AEROSSET, ARCHITECT, c4000, c8000, c16000, cSystem, and SmartWash are trademarks of Abbott Laboratories in various jurisdictions.

All trademarks are property of their respective owner(s).



304663/R02



Abbott Laboratories
Abbott Park, IL 60064 USA

September 2012
©2009, 2012 Abbott Laboratories



ABBOTT
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden
Germany
+49-6122-580



en

ALANINE AMINOTRANSFERASE

REF 7D56

304663/R02

ARCHITECT

ALANINE AMINOTRANSFERASE

This package insert contains information to run the Alanine Aminotransferase assay on the ARCHITECT c Systems.

Read Highlighted Changes Revised September 2012

Package insert instructions must be carefully followed. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this package insert.

Customer Service: Contact your local representative or find country-specific contact information on www.abbottdiagnostics.com.

Key to Symbols Used

EC REP	Authorized Representative in the European Community	R2	Reagent 2
FOR USE WITH	Identifies products to be used together	REF	Catalog number/List number
GTIN	Global Trade Item Number	SN	Serial number
INFORMATION FOR USA ONLY	Information needed for United States of America only		Consult instructions for use
IVD	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device		Manufacturer
LOT	Batch code/Lot number		Sufficient for
PRODUCT OF CANADA	Product of Canada		Temperature limitation
R1	Reagent 1		Use by/Expiration date

Abbott

NAME

ASPARTATE AMINOTRANSFERASE

INTENDED USE

The Aspartate Aminotransferase (AST) assay is used for the quantitation of aspartate aminotransferase in human serum or plasma.

SUMMARY AND EXPLANATION OF TEST

Aspartate aminotransferase (AST), also referred to as glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), is one of a group of enzymes which catalyzes the interconversion of amino acids and α -keto acids by transfer of amino groups. Both AST and alanine aminotransferase (ALT) are normally found in most body fluids, but not in urine except in instances of kidney lesions. The greatest concentrations of AST are found in heart, liver, muscle, and kidney tissues. Damage to these tissues can greatly elevate serum AST levels. Following myocardial infarction, AST in serum begins to increase within 6 to 8 hours of onset of pain, reaching a peak within 18 to 24 hours and falling to normal by the fourth or fifth day. Serum values may increase to 10 to 15 times normal levels and the increase is roughly proportional to the degree of tissue damage.^{1,2}

PRINCIPLES OF PROCEDURE

AST present in the sample catalyzes the transfer of the amino group from L-aspartate to α -ketoglutarate, forming oxaloacetate and L-glutamate. Oxaloacetate in the presence of NADH and malate dehydrogenase (MDH) is reduced to L-malate. In this reaction, NADH is oxidized to NAD. The reaction is monitored by measuring the rate of decrease in absorbance at 340 nm due to the oxidation of NADH to NAD.

Methodology: NADH (without P-5'-P)

REAGENTS

Reagent Kit

[REF] 7D81 AST is supplied as a liquid, ready-to-use, two-reagent kit which contains:

- [R1] 10 x 70 mL
- [R2] 10 x 21 mL

Estimated tests per kit: 3,621

Calculation is based on the minimum reagent fill volume per kit.

Reactive Ingredients	Concentration
[R1] β -NADH	0.16 mg/mL
Malate Dehydrogenase	0.64 U/mL
Lactate Dehydrogenase	0.64 U/mL
L-Aspartate	232 mmol/L
[R2] α -Ketoglutarate	51.3 mmol/L
L-Aspartate	100 mmol/L

REAGENT HANDLING AND STORAGE

Reagent Handling

Remove air bubbles, if present in the reagent cartridge, with a new applicator stick. Alternatively, allow the reagent to sit at the appropriate storage temperature to allow the bubbles to dissipate. To minimize volume depletion, do not use a transfer pipette to remove the bubbles.

CAUTION: Reagent bubbles may interfere with proper detection of reagent level in the cartridge, causing insufficient reagent aspiration which could impact results.

Reagent Storage

Unopened reagents are stable until the expiration date when stored at 2 to 8°C.

Reagent stability is 30 days if the reagent is uncapped and onboard.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

Precautions for Users

- For in vitro diagnostic use.
- Do not use components beyond the expiration date.
- Do not mix materials from different kit lot numbers.
- CAUTION:** This product requires the handling of human specimens. It is recommended that all human sourced materials be considered potentially infectious and be handled in accordance with the OSHA Standard on Bloodborne Pathogens.³ Biosafety Level 2⁴ or other appropriate biosafety practices^{5,6} should be used for materials that contain or are suspected of containing infectious agents.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

Suitable Specimens

Serum and plasma are acceptable specimens.

- Serum:** Use serum collected by standard venipuncture techniques into glass or plastic tubes with or without gel barriers. Ensure complete clot formation has taken place prior to centrifugation. When processing samples, separate serum from blood cells or gel according to the specimen collection tube manufacturer's instructions.

Some specimens, especially those from patients receiving anticoagulant or thrombolytic therapy, may take longer to complete their clotting processes. Fibrin clots may subsequently form in these sera and the clots could cause erroneous test results.

- Plasma:** Use plasma collected by standard venipuncture techniques into glass or plastic tubes. Acceptable anticoagulants are lithium heparin (with or without gel barrier) and sodium heparin. Do not use ammonium heparin.⁷ Ensure centrifugation is adequate to remove platelets. When processing samples, separate plasma from blood cells or gel according to the specimen collection tube manufacturer's instructions.

For total sample volume requirements, refer to the instrument-specific ASSAY PARAMETERS section of this package insert and Section 5 of the instrument-specific operations manual.

Specimen Storage

Serum and Plasma

Temperature	Maximum Storage	Bibliographic Reference
20 to 25°C	4 days	8
2 to 8°C	7 days	8, 9
-20°C	12 weeks	8

Guder et al.⁸ suggest storage of frozen specimens at -20°C for no longer than the time interval cited above. However, limitations of laboratory equipment make it necessary in practice for clinical laboratories to establish a range around -20°C for specimen storage. This temperature range may be established from either the freezer manufacturer's specifications or your laboratory standard operating procedure(s) for specimen storage.

NOTE: Stored specimens must be inspected for particulates. If present, mix and centrifuge the specimen to remove particulates prior to testing.

PROCEDURE

Materials Provided

[REF] 7D81 AST Reagent Kit

Materials Required but not Provided

- Control Material
- Saline (0.85% to 0.90% NaCl) for specimens that require dilution

Assay Procedure

For a detailed description of how to run an assay, refer to *Section 5* of the instrument-specific operations manual.

Specimen Dilution Procedures

The ARCHITECT cSystems and the AEROSET System have automatic dilution features; refer to *Section 2* of the instrument-specific operations manual for additional information.

Serum and Plasma: Specimens with AST values exceeding 913 U/L (4,202 U/L for Flex Rate Linearity) are flagged and may be diluted using the Automated Dilution Protocol or the Manual Dilution Procedure.

Automated Dilution Protocol

If using the Automated Dilution Protocol, the system performs a dilution of the specimen and automatically corrects the enzyme activity value by multiplying the result by the appropriate dilution factor. To set up the automatic dilution feature, refer to *Section 2* of the instrument-specific operations manual for additional information.

Manual Dilution Procedure

Manual dilutions should be performed as follows:

- Use saline (0.85% to 0.90% NaCl) to dilute the sample.
- The operator must enter the dilution factor in the patient or control order screen. The system uses this dilution factor to automatically correct the enzyme activity value by multiplying the result by the entered factor.
- If the operator does not enter the dilution factor, the result must be multiplied by the appropriate dilution factor before reporting the result.

NOTE: If a diluted sample result is flagged indicating it is less than the linear low limit, do not report the result. Rerun using an appropriate dilution.

For detailed information on ordering dilutions, refer to *Section 5* of the instrument-specific operations manual.

CALIBRATION

Calibration is stable for approximately 30 days (720 hours) and is required with each change in reagent lot number. Verify calibration with at least two levels of controls according to the established quality control requirements for your laboratory. If control results fall outside acceptable ranges, recalibration may be necessary.

A calibration factor must be entered. Refer to the ASSAY PARAMETERS section of this package insert for the specific factor.

- ARCHITECT cSystems—**Configure assay parameters** window, **Calibration** view
- AEROSET System—**Assay Configuration** screen, **Calibration** page

For a detailed description of how to calibrate an assay, refer to *Section 6* of the instrument-specific operations manual.

QUALITY CONTROL

The following is the recommendation of Abbott Laboratories for quality control. As appropriate, refer to your laboratory standard operating procedure(s) and/or quality assurance plan for additional quality control requirements and potential corrective actions.

- Two levels of controls (normal and abnormal) are to be run every 24 hours.
- If more frequent control monitoring is required, follow the established quality control procedures for your laboratory.
- If quality control results do not meet the acceptance criteria defined by your laboratory, patient values may be suspect. Follow the established quality control procedures for your laboratory. Recalibration may be necessary.
- Review quality control results and acceptance criteria following a change of reagent lot.

RESULTS

Refer to the instrument-specific operations manual for information on results calculations.

- ARCHITECT System Operations Manual—*Appendix C*
- AEROSET System Operations Manual—*Appendix A*

Representative performance data are given in the EXPECTED VALUES and SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS sections of this package insert. Results obtained in individual laboratories may vary.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Refer to the SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING and SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS sections of this package insert.

EXPECTED VALUES

Reference Range

Serum/Plasma¹⁰

	Range (U/L)
Adult	5 to 34

It is recommended that each laboratory determine its own reference range based upon its particular locale and population characteristics.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Linearity

AST is linear up to 913 U/L.

Flex Rate Linearity is 4,202 U/L. To use Flex Rate Linearity, the operator must edit the linear high value to 4,202 on the appropriate screen.

- ARCHITECT cSystems—**Configure assay parameters** screen, **Results** view
 - AEROSET System—**Assay Configuration** screen, **Outline** page
- Linearity was verified using Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) protocol NCCLS EP6-P.¹¹

Limit of Detection (LOD)

The LOD for AST is 2 U/L. The LOD is the mean concentration of an analyte-free sample + 2 SD, where SD = the pooled, within-run standard deviation of the analyte-free sample. A study performed on an ARCHITECT cSystem and the AEROSET System produced an LOD for AST is 0.9 U/L.

Limit of Quantitation (LOQ)

The LOQ for AST serum is 2.2 U/L. The LOQ is the analyte concentration at which the CV = 20%.

Interfering Substances

Interference studies were conducted using CLSI protocol NCCLS EP7-P.¹² Interference effects were assessed by Dose Response and Paired Difference methods, at the medical decision level of the analyte.

Interfering Substance	Interferent Concentration	N	Target (U/L)	Observed (% of Target)
Bilirubin	30 mg/dL (513 µmol/L)	4	72.2	95.8
	60 mg/dL (1,026 µmol/L)	4	72.2	91.9
Hemoglobin	62 mg/dL (0.62 g/L)	4	64.5	105.7
	125 mg/dL (1.25 g/L)	4	64.5	111.6
Intralipid	550 mg/dL (5.5 g/L)	4	69.0	95.4
	625 mg/dL (6.25 g/L)	4	69.0	103.9

Bilirubin solutions at the above concentrations were prepared by addition of a bilirubin stock to human serum pools. Hemoglobin solutions at the above concentrations were prepared by addition of hemolysate to human serum pools. Intralipid solutions at the above concentrations were prepared by addition of Intralipid to human serum pools.

Interferences from medications or endogenous substances may affect results.¹³

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

(Continued)

Precision

The imprecision of the AST assay is $\leq 4.6\%$ Total CV. Representative data from studies using CLSI protocol NCCLS EP5-A¹⁴ are summarized below.

Control		Level 1	Level 2
N		80	80
Mean (U/L)		32.4	174.2
Within Run	SD	0.36	0.61
	%CV	1.1	0.4
Between Run	SD	0.24	0.32
	%CV	0.8	0.2
Between Day	SD	0.53	0.96
	%CV	1.6	0.6
Total	SD	0.68	1.18
	%CV	2.1	0.7

Method Comparison

Correlation studies were performed using CLSI protocol NCCLS EP9-A.¹⁵

Serum results from the AST assay on the AEROSET System were compared with those from a commercially available NADH oxidation methodology.

Serum results from the AST assay on an ARCHITECT cSystem were compared with the AST assay on the AEROSET System.

	AEROSET vs. Comparative Method	ARCHITECT vs. AEROSET
N	78	89
Y - Intercept	-1.815	7.726
Correlation Coefficient	0.999	1.000
Slope	0.893	0.943
Range (U/L)*	4.3 to 317.4 U/L	13.2 to 2,972.2 U/L

*AEROSET Range

BIBLIOGRAPHY

- Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1994:790-1.
- Friedman RB, Young DS. *Effects of Disease on Clinical Laboratory Tests*. Washington, DC: AACC Press; 1989:3-38-3-41.
- US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. *Bloodborne Pathogens*.
- US Department of Health and Human Services. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, 5th ed. Washington, DC: US Government Printing Office, January 2007.
- World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual*, 3rd ed. Geneva: World Health Organization, 2004.
- Sewell DL, Bove KE, Callihan DR, et al. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline—Third Edition (M29-A3)*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
- Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1994:795.
- Guder WG, Narayanan S, Wisser H, et al. List of analytes—preanalytical variables. Annex In: *Samples: From the Patient to the Laboratory*. Darmstadt, Germany: GIT Verlag; 1996:Annex 8-9.
- US Pharmacopeial Convention, Inc. General notices. In: *US Pharmacopeia National Formulary*, 1995 ed (USP 23/NF 18). Rockville, MD: The US Pharmacopeial Convention, Inc; 1994:11.
- Kaplan LA, Pesce AJ, editors. *Clinical Chemistry Theory, Analysis, and Correlation*, 3rd ed. St Louis, MO: CV Mosby; 1996:523.
- Passey RB, Bee DE, Caffo A, et al. *Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods; Proposed Guideline (EP6-P)*. Villanova, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1986.
- Powers DM, Boyd JC, Glick MR, et al. *Interference Testing in Clinical Chemistry; Proposed Guideline (EP7-P)*. Villanova, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1986.
- Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995:3-68-3-79.
- Kennedy JW, Carey RN, Coolen RB, et al. *Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (EP5-A)*. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999.
- Kennedy JW, Carey RN, Coolen RB, et al. *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline (EP9-A)*. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1995.

TRADEMARKS

The ARCHITECT cSystem family of instruments consists of c4000, c8000, and c16000 instruments.

AEROSET, ARCHITECT, c4000, c8000, c16000, cSystem, and SmartWash are trademarks of Abbott Laboratories in various jurisdictions.

All other trademarks are property of their respective owners.



Abbott Laboratories
Abbott Park, IL 60064 USA



ABBOTT
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden
Germany
+49-6122-580

304410/R1



en

ALKALINE PHOSPHATASE

REF 7D55

306245/R03

ARCHITECT

ALKALINE PHOSPHATASE

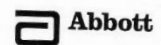
This package insert contains information to run the Alkaline Phosphatase assay on the ARCHITECT c Systems.

Read Highlighted Changes Revised March 2013

Package insert instructions must be carefully followed. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this package insert.

Customer Service: Contact your local representative or find country-specific contact information on www.abbottdiagnostics.com.

Key to Symbols Used	
EC REP	Authorized Representative in the European Community
FOR USE WITH	Identifies products to be used together
GTIN	Global Trade Item Number
INFORMATION FOR USA ONLY	Information needed for United States of America only
IVD	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device
LOT	Batch code/Lot number
PRODUCT OF USA	Product of USA
R1	Reagent 1
R2	Reagent 2
REF	Catalog number/List number
SN	Serial number
WARNING: EYE IRRITANT	Warning: Causes serious eye irritation
WARNING: SENSITIZER	Warning: May cause an allergic reaction
WARNING: SKIN IRRITANT	Warning: Causes skin irritation
	Consult instructions for use
	Manufacturer
	Sufficient for
	Temperature limitation
	Use by/Expiration date



NAME

ALKALINE PHOSPHATASE

INTENDED USE

The Alkaline Phosphatase assay is used for the quantitation of alkaline phosphatase in human serum or plasma.

SUMMARY AND EXPLANATION OF TEST

Human alkaline phosphatase (AlkP, EC.3.1.3.1) consists of a group of at least five tissue-specific isoenzymes which catalyzes the hydrolysis of phosphate mono-esters at alkaline pH. A variety of disease processes can result in the release of increased quantities of alkaline phosphatase into the blood.

PRINCIPLES OF PROCEDURE

Several substrates have been used to measure alkaline phosphatase activity such as glycerophosphate,¹ phenyl phosphate,¹ and *p*-nitrophenyl phosphate.² Bowers and McComb³ improved the method of Bessey et al. to include a kinetic measurement. Tietz et al.⁴ optimized this method to include a chelated metal-ion buffer of zinc, magnesium, and HEDTA. This Alkaline Phosphatase procedure is a modification of this method.

Alkaline phosphatase in the sample catalyzes the hydrolysis of colorless *p*-nitrophenyl phosphate (*p*-NPP) to give *p*-nitrophenol and inorganic phosphate. At the pH of the assay (alkaline), the *p*-nitrophenol is in the yellow phenoxide form. The rate of absorbance increase at 404 nm is directly proportional to the alkaline phosphatase activity in the sample. Optimized concentrations of zinc and magnesium ions are present to activate the alkaline phosphatase in the sample.

Methodology: Para-nitrophenyl Phosphate

REAGENTS**Reagent Kit**

Alkaline Phosphatase is supplied as a liquid, ready-to-use, two-reagent kit which contains:

REF 7D55-21

R1 5 x 21 mL

R2 5 x 11 mL

Estimated tests per kit: 1,500*

REF 7D55-31

R1 10 x 84 mL

R2 10 x 35 mL

Estimated tests per kit: 11,358*

*Calculation is based on the minimum reagent fill volume per kit.

Reactive Ingredients	Concentration
R1 2-amino-2-methylpropanol	> 1.2 mol/L
Magnesium	> 7.2 mmol/L
Zinc sulfate	> 3.6 mmol/L
HEDTA	> 7.2 mmol/L
R2 4-nitrophenyl phosphate	> 171.6 mmol/L

Inactive Ingredients: **R2** contains ProClin as a preservative.

REAGENT HANDLING AND STORAGE**Reagent Handling**

Remove air bubbles, if present in the reagent cartridge, with a new applicator stick. Alternatively, allow the reagent to sit at the appropriate storage temperature to allow the bubbles to dissipate. To minimize volume depletion, do not use a transfer pipette to remove the bubbles.

CAUTION: Reagent bubbles may interfere with proper detection of reagent level in the cartridge, causing insufficient reagent aspiration which could impact results.

Reagent Storage

Unopened reagents are stable until the expiration date when stored at 2 to 8°C. The **R2** reagent is light sensitive. Always store reagents protected from light.

Reagent stability is 8 days if the reagent is uncapped and onboard.

REAGENT HANDLING AND STORAGE (Continued)**Indications of Deterioration**

Instability or deterioration should be suspected if there are precipitates, visible signs of leakage, extreme turbidity, microbial growth, if calibration does not meet the appropriate package insert and/or **ARCHITECT System Operations Manual** criteria, or if controls do not meet the appropriate criteria.

WARNINGS AND PRECAUTIONS**Precautions for Users**

- **IVD**
- For *In Vitro* Diagnostic Use.
- Do not use components beyond the expiration date.
- Do not mix materials from different kit lot numbers.
- **CAUTION:** This product requires the handling of human specimens. It is recommended that all human sourced materials be considered potentially infectious and be handled in accordance with the OSHA Standard on Bloodborne Pathogens.⁵ Biosafety Level 2⁶ or other appropriate biosafety practices^{7,8} should be used for materials that contain or are suspected of containing infectious agents.
- The following warnings and precautions apply to **R1**:

WARNING

H315 Causes skin irritation.
H319 Causes serious eye irritation.

Prevention
P264 Wash hands thoroughly after handling.
P280 Wear protective gloves/protective clothing/eye protection.

Response
P305+351+338 IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.
P302+352 IF ON SKIN: Wash with plenty of water.
P337+313 If eye irritation persists: Get medical advice/attention.
P332+313 If skin irritation occurs: Get medical advice/attention.
P362 Take off contaminated clothing and wash before reuse.

- The following warnings and precautions apply to **R2**:

WARNING: Contains methylisothiazolones.



Hazard
H317 May cause an allergic skin reaction.

Prevention
P261 Avoid breathing mist/vapors/spray.
P272 Contaminated work clothing should not be allowed out of the workplace.
P280 Wear protective gloves/protective clothing/eye protection.

Response
P302+352 IF ON SKIN: Wash with plenty of water.
P333+313 If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.
P363 Wash contaminated clothing before reuse.

This material and its container must be disposed of in a safe way.

- Safety Data Sheets are available at www.abbottdiagnostics.com or contact your local representative.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING**Suitable Specimens**

Serum and plasma are acceptable specimens.

- **Serum:** Use serum collected by standard venipuncture techniques into glass or plastic tubes with or without gel barriers. Ensure complete clot formation has taken place prior to centrifugation. Centrifuge according to tube manufacturer's instructions to ensure proper separation of serum from blood cells.

Some specimens, especially those from patients receiving anticoagulant or thrombolytic therapy, may take longer to complete their clotting processes. Fibrin clots may subsequently form in these sera and the clots could cause erroneous test results.

- **Plasma:** Use plasma collected by standard venipuncture techniques into glass or plastic tubes. Acceptable anticoagulants are lithium heparin (with or without gel barrier) and sodium heparin. Ensure centrifugation is adequate to remove platelets. Centrifuge according to tube manufacturer's instructions to ensure proper separation of plasma from blood cells.

For total sample volume requirements, refer to the ASSAY PARAMETERS section of this package insert and *Section 5* of the **ARCHITECT System Operations Manual**.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING (Continued)

Specimen Storage

Serum and Plasma

Allow specimens to reach room temperature prior to analysis.⁹

Temperature	Maximum Storage	Bibliographic Reference
20 to 25°C	7 days	10
2 to 8°C	7 days	10, 11
-20°C	2 months	10

Guder et al.¹⁰ suggest storage of frozen specimens at -20°C for no longer than the time interval cited above. However, limitations of laboratory equipment make it necessary in practice for clinical laboratories to establish a range around -20°C for specimen storage.

This temperature range may be established from either the freezer manufacturer's specifications or your laboratory standard operating procedure(s) for specimen storage.

NOTE: Stored specimens must be inspected for particulates. If present, mix and centrifuge the specimen to remove particulates prior to testing.

PROCEDURE

Materials Provided

[REF] 7D55 Alkaline Phosphatase Reagent Kit

Materials Required but not Provided

- Control Material
- Saline (0.85% to 0.90% NaCl) for specimens that require dilution

Assay Procedure

For a detailed description of how to run an assay, refer to *Section 5* of the ARCHITECT System Operations Manual.

Specimen Dilution Procedures

The ARCHITECT cSystems have an automatic dilution feature; refer to *Section 2* of the ARCHITECT System Operations Manual for additional information.

Serum and Plasma: Specimens with alkaline phosphatase values exceeding 2,200 U/L (4,555 U/L for Flex Rate Linearity) are flagged and may be diluted by following either the Automated Dilution Protocol or the Manual Dilution Procedure.

Automated Dilution Protocol

If using the Automated Dilution Protocol, the system performs a dilution of the specimen and automatically corrects the enzyme activity value by multiplying the result by the appropriate dilution factor. To set up the automatic dilution feature, refer to *Section 2* of the ARCHITECT System Operations Manual for additional information.

Manual Dilution Procedure

Manual dilutions should be performed as follows:

- Use saline (0.85% to 0.90% NaCl) to dilute the sample.
- The operator must enter the dilution factor in the patient or control order screen. The system uses this dilution factor to automatically correct the enzyme activity value by multiplying the result by the entered factor.
- If the operator does not enter the dilution factor, the result must be multiplied by the appropriate dilution factor before reporting the result.

NOTE: If a diluted sample result is flagged indicating it is less than the linear low limit, do not report the result. Rerun using an appropriate dilution.

For detailed information on ordering dilutions, refer to *Section 5* of the ARCHITECT System Operations Manual.

CALIBRATION

Calibration is stable for approximately 8 days (192 hours) and is required with each change in reagent lot number. Verify calibration with at least two levels of controls according to the established quality control requirements for your laboratory. If control results fall outside acceptable range, recalibration may be necessary.

A calibration factor (2150) must be entered on the **Configure assay parameters** window, **Calibration** view.

For a detailed description of how to calibrate an assay, refer to *Section 6* of the ARCHITECT System Operations Manual.

QUALITY CONTROL

The following is the recommendation of Abbott Laboratories for quality control. As appropriate, refer to your laboratory standard operating procedure(s) and/or quality assurance plan for additional quality control requirements and potential corrective actions.

- Two levels of controls (normal and abnormal) are to be run every 24 hours.
- If more frequent control monitoring is required, follow the established quality control procedures for your laboratory.
- If quality control results do not meet the acceptance criteria defined by your laboratory, patient values may be suspect. Follow the established quality control procedures for your laboratory. Recalibration may be necessary.
- Review quality control results and acceptance criteria following a change of reagent lot.

RESULTS

Refer to *Appendix C* of the ARCHITECT System Operations Manual for information on results calculations.

Representative performance data are given in the EXPECTED VALUES and SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS sections of this package insert. Results obtained in individual laboratories may vary.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Refer to the SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING and SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS sections of this package insert.

EXPECTED VALUES

Reference Range

Serum/Plasma¹²

	Range (U/L)
Male	
1 to 12 years	< 500
12 to 15 years	< 750
> 20 years	40 to 150
Female	
1 to 12 years	< 500
> 15 years	40 to 150

It is recommended that each laboratory determine its own reference range based upon its particular locale and population characteristics.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Linearity

Alkaline Phosphatase is linear up to 2,200 U/L.

Flex Rate Linearity is 4,555 U/L. To use Flex Rate Linearity, the operator must edit the linear high value to 4,555 on the **Configure assay parameters** window, **Results** view.

Linearity was verified using Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) protocol NCCLS EP6-P.¹³

Limit of Detection (LOD)

The LOD for Alkaline Phosphatase is 5.0 U/L. The LOD is the mean concentration of an analyte-free sample + 2 SD, where SD = the pooled, within-run standard deviation of the analyte-free sample. A study performed on an ARCHITECT cSystem produced an LOD for Alkaline Phosphatase of 1.9 U/L.

Limit of Quantitation (LOQ)

The LOQ for Alkaline Phosphatase is 5.0 U/L. The LOQ is the analyte concentration at which the CV = 20%.

**SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS
(Continued)**

Interfering Substances

Interference studies were conducted using CLSI protocol NCCLS EP7-P.¹⁴ Interference effects were assessed by Dose Response and Paired Difference methods, at the medical decision level of the analyte.

Interfering Substance	Interferent Concentration	N	Target (U/L)	Observed (% of Target)
Bilirubin	30 mg/dL (513 µmol/L)	4	155.6	102.4
	60 mg/dL (1,026 µmol/L)	4	155.6	102.7
Hemoglobin	750 mg/dL (7.5 g/L)	4	150.8	95.3
	1,000 mg/dL (10.0 g/L)	4	150.8	94.3
Intralipid	750 mg/dL (7.5 g/L)	4	144.3	100.4
	1,000 mg/dL (10.0 g/L)	4	144.3	100.2

Bilirubin solutions at the above concentrations were prepared by addition of a bilirubin stock to human serum pools. Hemoglobin solutions at the above concentrations were prepared by addition of hemolysate to human serum pools. Intralipid solutions at the above concentrations were prepared by addition of Intralipid to human serum pools.

Interferences from medications or endogenous substances may affect results.¹⁵

Precision

The imprecision of the Alkaline Phosphatase assay is ≤ 6.2% Total CV. Representative data from studies using CLSI protocol NCCLS EP5-A¹⁶ are summarized below.

Control		Level 1	Level 2
N		80	80
Mean (U/L)		84.4	437.8
Within Run	SD	3.89	3.17
	%CV	4.6	0.7
Between Run	SD	2.86	5.53
	%CV	3.4	1.3
Between Day	SD	0.00	7.29
	%CV	0.0	1.7
Total	SD	4.83	9.68
	%CV	5.7	2.2

Method Comparison

Correlation studies were performed using CLSI protocol NCCLS EP9-A.¹⁷

Serum results from the Alkaline Phosphatase assay on the AEROSSET System were compared with those from a commercially available p-nitrophenyl phosphate hydrolysis methodology.

Serum results from the Alkaline Phosphatase assay on an ARCHITECT cSystem were compared with those from the Alkaline Phosphatase assay on the AEROSSET System.

	AEROSSET vs. Comparative Method	ARCHITECT vs. AEROSSET
N	120	109
Y - Intercept	-0.124	1.209
Correlation Coefficient	0.999	1.000
Slope	1.059	0.981
Range (U/L)*	29.6 to 957.1	31.6 to 4,527.1

*AEROSSET Range

BIBLIOGRAPHY

- King EJ, Armstrong AR. A convenient method for determining serum and bile phosphatase activity. *Can Med Assoc J* 1934;31:376-81.
- Bessey OA, Lowry OH, Brock MJ. A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum. *J Biol Chem* 1946;164:321-9.
- Bowers GN, McComb RB. A continuous spectrophotometric method for measuring the activity of serum alkaline phosphatase. *Clin Chem* 1966;12(2):70-89.
- Tietz NW, Burtis CA, Duncan P, et al. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. *Clin Chem* 1983;29(5):751-6.
- US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. *Bloodborne Pathogens*.
- US Department of Health and Human Services. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, 5th ed. Washington, DC: US Government Printing Office, December 2009.
- World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual*, 3rd ed. Geneva: World Health Organization, 2004.
- Sewell DL, Bove KE, Callihan DR, et al. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline—Third Edition (M29-A3)*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
- Tietz NW, Rinker AD, Shaw LM. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes, part 5: IFCC method for alkaline phosphatase. *J Clin Chem Clin Biochem* 1983;21(11):731-48.
- Guder WG, da Fonseca-Wollheim F, Heil W, et al. *The Quality of Diagnostic Samples*. Darmstadt, Germany: GIT Verlag; 2001:14-5.
- US Pharmacopeial Convention, Inc. General notices. In: *US Pharmacopeia National Formulary*, 1995 ed (USP 23/NF18). Rockville, MD: The US Pharmacopeial Convention, Inc; 1994:11.
- Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1994:836.
- Passey RB, Bee DE, Caffo A, et al. *Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods; Proposed Guideline (EP6-P)*. Villanova, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1986.
- Powers DM, Boyd JC, Glick MR, et al. *Interference Testing in Clinical Chemistry; Proposed Guideline (EP7-P)*. Villanova, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1986.
- Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995:3-26-3-35.
- Kennedy JW, Carey RN, Coolen RB, et al. *Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (EP5-A)*. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999.
- Kennedy JW, Carey NR, Coolen RB, et al. *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline (EP9-A)*. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1995.

TRADEMARKS

The ARCHITECT cSystem family of instruments consists of c4000, c8000, and c16000 instruments.

AEROSSET, ARCHITECT, c4000, c8000, c16000, cSystem, and SmartWash are trademarks of Abbott Laboratories in various jurisdictions.

All trademarks are property of their respective owner(s).



Abbott Laboratories
Abbott Park, IL 60064 USA



ABBOTT
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden
Germany
+49-6122-580

306245/R03

March 2013
©2009, 2013 Abbott Laboratories

ARCHITECT





GAMMA-GLUTAMYL TRANSFERASE

This package insert contains information to run the Gamma-Glutamyl Transferase assay on the ARCHITECT cSystems.

Read Highlighted Changes Revised June 2012

Package insert instructions must be carefully followed. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this package insert.

Customer Service: Contact your local representative or find country-specific contact information on www.abbottdiagnostics.com.

Key to Symbols Used			
CONC	Concentration	R2	Reagent 2
CONT	Contents of kit	REF	Catalog number/List number
CONTAINS: AZIDE	Contains sodium azide. Contact with acids liberates very toxic gas	SN	Serial number
EC REP	Authorized Representative in the European Community		Consult instructions for use
INGRED	Ingredients		Manufacturer
IVD	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device		Temperature limitation
LOT	Batch code/Lot number		Use by/Expiration date
R1	Reagent 1		

NAME

GAMMA-GLUTAMYL TRANSFERASE

INTENDED USE

The Gamma-Glutamyl Transferase (GGT) assay is used for the quantitation of gamma-glutamyl transferase in human serum or plasma.

SUMMARY AND EXPLANATION OF TEST

Gamma-glutamyl transferase was first identified in kidney tissue. Even though renal tissue has the highest level of GGT, the enzyme present in serum appears to originate primarily from the hepatobiliary system, and GGT is elevated in many forms of liver disease. Elevations in GGT levels are seen earlier and are more pronounced than those with other liver enzymes in cases of obstructive jaundice and metastatic neoplasms. It may reach 5 to 30 times normal levels in intra- or post-hepatic biliary obstruction. Only moderate elevations in the enzyme level (2 to 5 times normal) are observed with infectious hepatitis; therefore, GGT measurements are less useful diagnostically than transaminase determinations with this condition.

PRINCIPLES OF PROCEDURE

GGT catalyzes the transfer of the gamma-glutamyl group from the donor substrate (L-gamma-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide) to the glycyglycine acceptor to yield 3-carboxy-4-nitroaniline. The rate of the absorbance increase at 412 nm (416 nm for c 4000 and c 16000) is directly proportional to the GGT in the sample. The GGT procedure is a modification of the method described by Theodorsen et al.¹

Methodology: L-Gamma-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide Substrate

REAGENTS

Reagent Kit

[REF] 7D65 Gamma-Glutamyl Transferase is supplied as a liquid, ready-to-use, two-reagent kit which contains:

[R1] 5 x 46 mL

[R2] 5 x 15 mL

Estimated tests per kit: 1,500

Calculation is based on the minimum reagent fill volume per kit.

Reactive Ingredients	Concentration
[R1] Glycyglycine	191 mmol/L
[R2] L-gamma-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide, ammonium salt	30.6 mmol/L

Inactive Ingredients: [R1] and [R2] contain sodium azide ($\leq 0.1\%$) as a preservative.

REAGENT HANDLING AND STORAGE

Reagent Handling

Remove air bubbles, if present in the reagent cartridge, with a new applicator stick. Alternatively, allow the reagent to sit at the appropriate storage temperature to allow the bubbles to dissipate. To minimize volume depletion, do not use a transfer pipette to remove the bubbles.

CAUTION: Reagent bubbles may interfere with proper detection of reagent level in the cartridge, causing insufficient reagent aspiration which could impact results.

Reagent Storage

Unopened reagents are stable until the expiration date when stored at 2 to 8°C.

Reagent stability is 27 days if the reagent is uncapped and onboard.

Indications of Deterioration

Instability or deterioration should be suspected if there are precipitates, visible signs of leakage, extreme turbidity, microbial growth, if calibration does not meet the appropriate package insert and/or ARCHITECT System Operations Manual criteria, or if controls do not meet the appropriate criteria

WARNINGS AND PRECAUTIONS

Precautions for Users

- [IVD]
- For *In Vitro* Diagnostic Use.
- Do not use components beyond the expiration date.
- Do not mix materials from different kit lot numbers.
- **CAUTION:** This product requires the handling of human specimens. It is recommended that all human sourced materials be considered potentially infectious and be handled in accordance with the OSHA Standard on Bloodborne Pathogens.² Biosafety Level 2³ or other appropriate biosafety practices^{4,5} should be used for materials that contain or are suspected of containing infectious agents.
- This product contains sodium azide; for a specific listing, refer to the REAGENTS section of this package insert. Contact with acids liberates very toxic gas. This material and its container must be disposed of in a safe way.
NOTE: Refer to Section 8 of the ARCHITECT System Operations Manual for proper handling and disposal of reagents containing sodium azide.
- Safety Data Sheets are available at www.abbottdiagnostics.com or contact your local representative.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

Suitable Specimens

Serum and plasma are acceptable specimens.

- **Serum:** Use serum collected by standard venipuncture techniques into glass or plastic tubes with or without gel barriers. Ensure complete clot formation has taken place prior to centrifugation. Centrifuge according to tube manufacturer's instructions to ensure proper separation of serum from blood cells.
Some specimens, especially those from patients receiving anticoagulant or thrombolytic therapy, may take longer to complete their clotting processes. Fibrin clots may subsequently form in these sera and the clots could cause erroneous test results.
- **Plasma:** Use plasma collected by standard venipuncture techniques into glass or plastic tubes. Acceptable anticoagulants are lithium heparin (with or without gel barrier) and sodium heparin. Ensure centrifugation is adequate to remove platelets. Centrifuge according to tube manufacturer's instructions to ensure proper separation of plasma from blood cells.

For total sample volume requirements, refer to the ASSAY PARAMETERS section of this package insert and Section 5 of the ARCHITECT System Operations Manual.

Specimen Storage

Serum and Plasma

Temperature	Maximum Storage	Bibliographic Reference
20 to 25°C	7 days	6
2 to 8°C	7 days	6, 7
-20°C	> 1 year	6

Guder et al.⁶ suggest storage of frozen specimens at -20°C for no longer than the time interval cited above. However, limitations of laboratory equipment make it necessary in practice for clinical laboratories to establish a range around -20°C for specimen storage. This temperature range may be established from either the freezer manufacturer's specifications or your laboratory standard operating procedure(s) for specimen storage.

NOTE: Stored specimens must be inspected for particulates. If present, mix and centrifuge the specimen to remove particulates prior to testing.

PROCEDURE

Materials Provided

[REF] 7D65 Gamma-Glutamyl Transferase Reagent Kit

Materials Required but not Provided

- Control Material
- Saline (0.85% to 0.90% NaCl) for specimens that require dilution

Assay Procedure

For a detailed description of how to run an assay, refer to *Section 5* of the **ARCHITECT System Operations Manual**.

Specimen Dilution Procedures

The ARCHITECT cSystems have an automatic dilution feature; refer to *Section 2* of the **ARCHITECT System Operations Manual** for additional information.

Serum and Plasma: Specimens with GGT values exceeding 1,543 U/L (9,256 U/L for Flex Rate Linearity) are flagged and may be diluted by following either the Automated Dilution Protocol or the Manual Dilution Procedure.

Automated Dilution Protocol

If using the Automated Dilution Protocol, the system performs a dilution of the specimen and automatically corrects the enzyme activity value by multiplying the result by the appropriate dilution factor. To set up the automatic dilution feature, refer to *Section 2* of the **ARCHITECT System Operations Manual** for additional information.

Manual Dilution Procedure

Manual dilutions should be performed as follows:

- Use saline (0.85% to 0.90% NaCl) to dilute the sample.
- The operator must enter the dilution factor in the patient or control order screen. The system uses this dilution factor to automatically correct the enzyme activity value by multiplying the result by the entered factor.
- If the operator does not enter the dilution factor, the result must be multiplied by the appropriate dilution factor before reporting the result.

NOTE: If a diluted sample result is flagged indicating it is less than the linear low limit, do not report the result. Rerun using an appropriate dilution.

For detailed information on ordering dilutions, refer to *Section 5* of the **ARCHITECT System Operations Manual**.

CALIBRATION

Calibration is stable for approximately 27 days (648 hours) and is required with each change in reagent lot number. Verify calibration with at least two levels of controls according to the established quality control requirements for your laboratory. If control results fall outside acceptable ranges, recalibration may be necessary.

A calibration factor must be entered in the **Configure assay parameters** window, **Calibration** view.

For a detailed description of how to calibrate an assay, refer to *Section 6* of the **ARCHITECT System Operations Manual**.

QUALITY CONTROL

The following is the recommendation of Abbott Laboratories for quality control. As appropriate, refer to your laboratory standard operating procedure(s) and/or quality assurance plan for additional quality control requirements and potential corrective actions.

- Two levels of controls (normal and abnormal) are to be run every 24 hours.
- If more frequent control monitoring is required, follow the established quality control procedures for your laboratory.
- If quality control results do not meet the acceptance criteria defined by your laboratory, patient values may be suspect. Follow the established quality control procedures for your laboratory. Recalibration may be necessary.
- Review quality control results and acceptance criteria following a change of reagent lot.

RESULTS

Refer to *Appendix C* of the **ARCHITECT System Operations Manual** for information on results calculations.

Representative performance data are given in the EXPECTED VALUES and SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS sections of this package insert. Results obtained in individual laboratories may vary.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Refer to the SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING and SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS sections of this package insert.

EXPECTED VALUES

Reference Range

Serum/Plasma⁸

	Range (U/L)
Male	12 to 64
Female	9 to 36

It is recommended that each laboratory determine its own reference range based upon its particular locale and population characteristics.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Linearity

GGT is linear up to 1,543 U/L (1,417 U/L using IFCC factor). Flex Rate Linearity is 9,256 U/L (8,500 U/L using IFCC factor). To use Flex Rate Linearity, the operator must edit the linear high value to 9,256 on the **Configure assay parameters** screen, **Results** view.

Linearity was verified using Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) protocol NCCLS EP6-P.⁹

Limit of Detection (LOD)

The LOD for GGT is 2.5 U/L. The LOD is the mean concentration of an analyte-free sample + 2 SD, where SD = the pooled, within-run standard deviation of the analyte-free sample. A study performed on an ARCHITECT cSystem produced an LOD for GGT of 1.0 U/L.

Limit of Quantitation (LOQ)

The LOQ for GGT is 3.3 U/L. The LOQ is the analyte concentration at which the CV = 20%.

Interfering Substances

Interference studies were conducted using CLSI protocol NCCLS EP7-P.¹⁰ Interference effects were assessed by Dose Response and Paired Difference methods, at the medical decision level of the analyte.

Interfering Substance	Interferent Concentration	N	Target (U/L)	Observed (% of Target)
Bilirubin	15 mg/dL (257 µmol/L)	4	47.5	92.5
	30 mg/dL (513 µmol/L)	4	47.5	88.1
Hemoglobin	250 mg/dL (2.5 g/L)	4	42.6	91.6
	500 mg/dL (5.0 g/L)	4	42.6	82.6
Intralipid	1,000 mg/dL (10.0 g/L)	4	45.1	99.8
	2,000 mg/dL (20.0 g/L)	4	45.1	103.2

Bilirubin solutions at the above concentrations were prepared by addition of a bilirubin stock to human serum pools. Hemoglobin solutions at the above concentrations were prepared by addition of hemolysate to human serum pools. Intralipid solutions at the above concentrations were prepared by addition of Intralipid to human serum pools.

Interferences from medications or endogenous substances may affect results.¹¹

**SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS
(Continued)**

Precision

The imprecision of the GGT assay is ≤ 4.8% Total CV. Representative data from studies using CLSI protocol NCCLS EP5-A¹² are summarized below.

Control		Level 1	Level 2
N		80	80
Mean (U/L)		46.2	201.0
Within Run	SD	1.07	1.41
	%CV	2.3	0.7
Between Run	SD	0.60	0.78
	%CV	1.3	0.4
Between Day	SD	0.59	1.90
	%CV	1.3	1.0
Total	SD	1.36	2.49
	%CV	2.9	1.2

Method Comparison

Correlation studies were performed using CLSI protocol NCCLS EP9-A,¹³

Serum results from the GGT assay on the AEROSET System were compared with those from a commercially available gamma-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide substrate methodology.

Serum results from the GGT assay on an ARCHITECT cSystem were compared with the GGT assay on the AEROSET System.

	AEROSET vs. Comparative Device	ARCHITECT vs. AEROSET
N	80	87
Y - Intercept	-0.680	-0.90
Correlation Coefficient	0.997	1.000
Slope	1.271	1.13
Range (U/L)*	13.8 to 1,240.8	11.8 to 7,582.1

*AEROSET Range

BIBLIOGRAPHY

- Theodorsen L, Strømme JH. Gamma-Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide: the substrate of choice for routine determinations of gamma-glutamyl-transferase activity in serum? *Clin Chim Acta* 1976;72:205.
- US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. *Bloodborne Pathogens*.
- US Department of Health and Human Services. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, 5th ed. Washington, DC: US Government Printing Office, December 2009.
- World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual*, 3rd ed. Geneva: World Health Organization, 2004.
- Sewell DL, Bove KE, Callihan DR, et al. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline—Third Edition (M29-A3)*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
- Guder WG, da Fonseca-Wollheim F, Heil W, et al. *The Quality of Diagnostic Samples*. Darmstadt, Germany: GIT Verlag; 2001:30–1.
- US Pharmacopeial Convention, Inc. General notices. In: *US Pharmacopeia National Formulary*, 1995 ed (USP 23/NF 18). Rockville, MD: The US Pharmacopeial Convention, Inc; 1994:11.
- Thomas L. *Clinical Laboratory Diagnostics: Use and Assessment of Clinical Laboratory Results*. Frankfurt/Main, Germany: TH-Books Verlagsgesellschaft mbH; 1998:80–6.
- Passey RB, Bee DE, Caffo A, et al. *Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods; Proposed Guideline (EP6-P)*. Villanova, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1986.
- Powers DM, Boyd JC, Glick MR, et al. *Interference Testing in Clinical Chemistry; Proposed Guideline (EP7-P)*. Villanova, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1986.
- Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995:3-296–3-300.
- Kennedy JW, Carey RN, Coolen RB, et al. *Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (EP5-A)*. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999.
- Kennedy JW, Carey RN, Coolen RB, et al. *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline (EP9-A)*. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1995.

TRADEMARKS

The ARCHITECT cSystem family of instruments consists of c4000, c8000, and c16000 instruments.

AEROSET, ARCHITECT, c4000, c8000, c16000, cSystem, and SmartWash are trademarks of Abbott Laboratories in various jurisdictions.

All trademarks are property of their respective owner(s).



304645/R02

Abbott Laboratories
Abbott Park, IL 60064 USA

June 2012
©2010, 2012 Abbott Laboratories



ABBOTT
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden
Germany
+49-6122-580

ARCHITECT / AEROSET















TOTAL PROTEIN

This package insert contains information to run the Total Protein assay on the ARCHITECT cSystems and the AEROSET System.

NOTE: This package insert must be read carefully prior to product use. Package insert instructions must be followed accordingly. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this package insert.

Customer Support

- United States:** 1-877-4ABBOTT
- Canada:** 1-800-387-8378 (English speaking customers)
 1-800-465-2675 (French speaking customers)
- International:** Call your local Abbott representative

Symbols in Product Labeling			
	Calibrators 1 and 2		Reagent 1
	Concentration		Catalog number/List number
	Contents		Serial number
	Authorized Representative in the European Community		Consult instructions for use
	Ingredients		Manufacturer
	In vitro diagnostic medical device		Temperature limitation
	Batch code/Lot number		Use by/Expiration date

NAME

TOTAL PROTEIN

INTENDED USE

The Total Protein assay is used for the quantitation of total protein in human serum or plasma.

SUMMARY AND EXPLANATION OF TEST

Plasma proteins derive primarily from synthesis in the liver, plasma cells, lymph nodes, spleen, and bone marrow. In disease states both the total plasma protein level and the ratio of the individual fractions may be dramatically altered from their normal values. Hypoproteinemia may be caused by such conditions as nephrotic syndrome, extensive bleeding, sprue (deficient protein absorption), severe burns, salt retention syndromes, and Kwashiorkor (acute protein starvation). Hyperproteinemia may be observed in cases of severe dehydration and disease states such as multiple myeloma. Changes in the proportions of the plasma proteins may occur in one or several of the protein fractions and often without alterations in the quantity of the total protein. The A/G ratio has commonly been used as an index of the distribution between the albumin and globulin fractions. This ratio can be significantly altered in such conditions as cirrhosis of the liver, glomerulonephritis, nephrotic syndrome, acute hepatitis, lupus erythematosus, and in some acute and chronic infections.

PRINCIPLES OF PROCEDURE

Polypeptides containing at least two peptide bonds react with biuret reagent. In alkaline solution, cupric ion forms a coordination complex with protein nitrogen with very little difference between albumin and globulin on a protein-nitrogen basis.

Methodology: Biuret

REAGENTS**Reagent Kit**

[REF] 7D73 Total Protein is supplied as a liquid, ready-to-use, single reagent kit which contains:

[R1] 10 x 84 mL

Estimated tests per kit: 3,622

Calculation is based on the minimum reagent fill volume per kit.

Reactive Ingredients	Concentration
Sodium Potassium Tartrate	23.4 mmol/L
Sodium Hydroxide	613 mmol/L
Potassium Iodide	6.6 mmol/L
Copper Sulfate	13.2 mmol/L

REAGENT HANDLING AND STORAGE**Reagent Handling**

Remove air bubbles, if present in the reagent cartridge, with a new applicator stick. Alternatively, allow the reagent to sit at the appropriate storage temperature to allow the bubbles to dissipate. To minimize volume depletion, do not use a transfer pipette to remove the bubbles.

CAUTION: Reagent bubbles may interfere with proper detection of reagent level in the cartridge, causing insufficient reagent aspiration which could impact results.

Reagent Storage

Unopened reagents are stable until the expiration date when stored at 15 to 30°C.

Reagent stability is 23 days if the reagent is uncapped and onboard.

WARNINGS AND PRECAUTIONS**Precautions for Users**

- For in vitro diagnostic use.
- Do not use components beyond the expiration date.
- Do not mix materials from different kit lot numbers.
- CAUTION:** This product requires the handling of human specimens. It is recommended that all human sourced materials be considered potentially infectious and be handled in accordance with the OSHA Standard on Bloodborne Pathogens¹. Biosafety Level 2² or other appropriate biosafety practices^{3,4} should be used for materials that contain or are suspected of containing infectious agents.

WARNINGS AND PRECAUTIONS (Continued)

5. The following warnings and precautions apply to **[R1]**:



DANGER: Contains sodium hydroxide and copper sulfate.

H318 Causes serious eye damage.

H315 Causes skin irritation.

H412 Harmful to aquatic life with long lasting effects.

H290 May be corrosive to metals.

Prevention

P280 Wear protective gloves/protective clothing/eye protection.

P264 Wash hands thoroughly after handling.

P234 Keep only in original container.

P273 Avoid release to the environment

Response

P305+P351
+P338 **IF IN EYES:** Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. Immediately call a POISON CENTER or doctor/physician.

P310 **IF ON SKIN:** Wash with plenty of soap and water.

P332+P313 If skin irritation occurs: Get medical advice/attention.

P362 Take off contaminated clothing and wash before reuse.

P390 Absorb spillage to prevent material damage.

6. This material and its container must be disposed of in a safe way.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING**Suitable Specimens**

Serum and plasma are acceptable specimens.

- Serum:** Use serum collected by standard venipuncture techniques into glass or plastic tubes with or without gel barriers. Ensure complete clot formation has taken place prior to centrifugation. When processing samples, separate serum from blood cells or gel according to the specimen collection tube manufacturer's instructions.

Some specimens, especially those from patients receiving anticoagulant or thrombolytic therapy, may take longer to complete their clotting processes. Fibrin clots may subsequently form in these sera and the clots could cause erroneous test results.

- Plasma:** Use plasma collected by standard venipuncture techniques into glass or plastic tubes. Acceptable anticoagulants are lithium heparin (with or without gel barrier) and sodium heparin. Ensure centrifugation is adequate to remove platelets. When processing samples, separate plasma from blood cells or gel according to the specimen collection tube manufacturer's instructions.

For total sample volume requirements, refer to the instrument-specific ASSAY PARAMETERS section of this package insert and *Section 5* of the instrument-specific operations manual.

Specimen Storage

Serum and Plasma: Total protein is stable in serum and plasma for 1 week at room temperature, for at least 1 month when refrigerated, and for up to 2 months at -20°C.⁵

An in-house study confirmed total protein is stable in serum for 34 days at 2 to 8°C.

NOTE: Stored specimens must be inspected for particulates. If present, mix and centrifuge the specimen to remove particulates prior to testing.

PROCEDURE**Materials Provided**

[REF] 7D73 Total Protein Reagent Kit

Materials Required but not Provided

- [REF]** 1E65 Multiconstituent Calibrator, **[CAL 1-2]** 3 x 5 mL
- Control Material
- Saline (0.85% to 0.90% NaCl) for specimens that require dilution

Assay Procedure

For a detailed description of how to run an assay, refer to *Section 5* of the instrument-specific operations manual.

PROCEDURE (Continued)

Specimen Dilution Procedures

The ARCHITECT cSystems and the AEROSET System have automatic dilution features; refer to *Section 2* of the instrument-specific operations manual for additional information.

Serum and Plasma: Specimens with total protein values exceeding 18.4 g/dL (184 g/L) are flagged and may be diluted using the Automated Dilution Protocol or the Manual Dilution Procedure.

Automated Dilution Protocol

If using the Automated Dilution Protocol, the system performs a dilution of the specimen and automatically corrects the concentration by multiplying the result by the appropriate dilution factor. To set up the automatic dilution feature, refer to *Section 2* of the instrument-specific operations manual for additional information.

Manual Dilution Procedure

Manual dilutions should be performed as follows:

- Use saline (0.85% to 0.90% NaCl) to dilute the sample.
- The operator must enter the dilution factor in the patient or control order screen. The system uses this dilution factor to automatically correct the concentration by multiplying the result by the entered factor.
- If the operator does not enter the dilution factor, the result must be multiplied by the appropriate dilution factor before reporting the result.

NOTE: If a diluted sample result is flagged indicating it is less than the linear low limit, do not report the result. Rerun using an appropriate dilution.

For detailed information on ordering dilutions, refer to *Section 5* of the instrument-specific operations manual.

CALIBRATION

Calibration is stable for approximately 23 days (552 hours) and is required with each change in reagent lot number. Verify calibration with at least two levels of controls according to the established quality control requirements for your laboratory. If control results fall outside acceptable ranges, recalibration may be necessary.

For a detailed description of how to calibrate an assay, refer to *Section 6* of the instrument-specific operations manual.

For information on calibrator standardization, refer to the Multiconstituent Calibrator package insert.

QUALITY CONTROL

The following is the recommendation of Abbott Laboratories for quality control. As appropriate, refer to your laboratory standard operating procedure(s) and/or quality assurance plan for additional quality control requirements and potential corrective actions.

- Two levels of controls (normal and abnormal) are to be run every 24 hours.
- If more frequent control monitoring is required, follow the established quality control procedures for your laboratory.
- If quality control results do not meet the acceptance criteria defined by your laboratory, patient values may be suspect. Follow the established quality control procedures for your laboratory. Recalibration may be necessary.
- Review quality control results and acceptance criteria following a change of reagent or calibrator lot.

RESULTS

Refer to the instrument-specific operations manual for information on results calculations.

- ARCHITECT System Operations Manual—Appendix C
- AEROSET System Operations Manual—Appendix A

Representative performance data are given in the EXPECTED VALUES and SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS sections of this package insert. Results obtained in individual laboratories may vary.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Refer to the SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING and SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS sections of this package insert.

RESULTS (Continued)

EXPECTED VALUES

Reference Range

Serum⁶

	Range (g/dL)	Range (g/L)
Premature	3.6 to 6.0	36 to 60
Newborn	4.6 to 7.0	46 to 70
Cord	4.8 to 8.0	48 to 80
1 week	4.4 to 7.6	44 to 76
7 months to 1 year	5.1 to 7.3	51 to 73
1 to 2 years	5.6 to 7.5	56 to 75
≥ 3 years	6.0 to 8.0	60 to 80
Adult, Ambulatory	6.4 to 8.3	64 to 83
Adult, Recumbent	6.0 to 7.8	60 to 78
> 60 years	lower by ~ 0.2	lower by ~ 2

To convert results from g/dL to g/L, multiply g/dL by 10.

Plasma

Plasma values are generally 0.3 to 0.5 g/dL higher than serum values due to the presence of fibrinogen.⁷ This difference has been shown to vary among specific populations.⁸

It is recommended that each laboratory determine its own reference range based upon its particular locale and population characteristics.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Linearity

Total Protein is linear up to 18.4 g/dL (184 g/L). Linearity was verified using Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) protocol NCCLS EP6-P.⁹

Limit of Detection (LOD)

The LOD for Total Protein is 0.5 g/dL (5.0 g/L). The LOD is the mean concentration of an analyte-free sample + 2 SD, where SD = the pooled, within-run standard deviation of the analyte-free sample. A study performed on an ARCHITECT cSystem and an AEROSET System produced an LOD for Total Protein of 0.07 g/dL (0.7 g/L).

Limit of Quantitation (LOQ)

The LOQ for Total Protein is 0.76 g/dL (7.6 g/L). The LOQ is the analyte concentration at which the CV = 20%.

**SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS
(Continued)**

Interfering Substances

Interference studies were conducted using CLSI protocol NCCLS EP7-P.¹⁰ Interference effects were assessed by Dose Response and Paired Difference methods, at the medical decision level of the analyte.

Interfering Substance	Interferent Concentration	N	Target (g/dL)	Observed (% of Target)
Bilirubin	30 mg/dL (513 µmol/L)	3	6.6	96.2
	60 mg/dL (1,026 µmol/L)	3	6.6	93.4
Hemoglobin	125 mg/dL (1.25 g/L)	3	5.2	106.2
	250 mg/dL (2.50 g/L)	3	5.2	112.1
Human triglyceride	750 mg/dL (8.5 mmol/L)	4	8.9	100.2
	1,000 mg/dL (11.3 mmol/L)	4	8.9	99.5

Bilirubin solutions at the above concentrations were prepared by addition of a bilirubin stock to human serum pools. Hemoglobin solutions at the above concentrations were prepared by addition of hemolysate to human serum pools. Human triglyceride solutions at the above concentrations were prepared by mixing an elevated triglyceride human serum pool with a normal triglyceride human serum pool.

Interferences from medications or endogenous substances may affect results.¹¹

Precision

The imprecision of the Total Protein assay is ≤ 3% Total CV. Representative data from studies using CLSI protocol NCCLS EP5-A¹² are summarized below.

Control		Level 1	Level 2
N		80	80
Mean (g/dL)		6.5	4.1
Within Run	SD	0.01	0.01
	%CV	0.2	0.4
Between Run	SD	0.03	0.02
	%CV	0.4	0.4
Between Day	SD	0.09	0.08
	%CV	1.4	1.8
Total	SD	0.09	0.08
	%CV	1.4	1.9

Method Comparison

Correlation studies were performed using CLSI protocol NCCLS EP9-A.¹³

Serum results from the Total Protein assay on the AEROSET System were compared with those from a commercially available biuret reaction methodology.

Serum results from the Total Protein assay on an ARCHITECT cSystem were compared with those from the Total Protein assay on an AEROSET System.

	AEROSET vs. Comparative Method	ARCHITECT vs. AEROSET
N	80	100
Y - Intercept	0.167	0.000
Correlation Coefficient	0.984	1.000
Slope	1.020	0.989
Range (g/dL)*	2.20 to 11.46	1.94 to 16.77

*AEROSET range

BIBLIOGRAPHY

1. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. *Bloodborne Pathogens*.
2. US Department of Health and Human Services. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, 5th ed. Washington, DC: US Government Printing Office, January 2007.
3. World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual*, 3rd ed. Geneva: World Health Organization, 2004.
4. Sewell DL, Bove KE, Callihan DR, et al. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline—Third Edition (M29-A3)*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
5. Kaplan LA, Pesce AJ, editors. *Clinical Chemistry Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. St. Louis, MO: CV Mosby; 1989:1059.
6. Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1994:2204–5.
7. Dawney AB, Hirst AD, Perry DE, et al. A critical assessment of current analytical methods for the routine assay of serum total protein and recommendations for their improvement. *Ann Clin Biochem* 1991;28:556–67.
8. Bakker AJ, Gorgels J, Draaisma J, et al. Simple method for correcting total protein in plasma for actual fibrinogen content. *Clin Chem* 1992;38(11):2221–3.
9. Passey RB, Bee DE, Caffo A, et al. *Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods; Proposed Guideline (EP6-P)*. Villanova, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1986.
10. Powers DM, Boyd JC, Glick MR, et al. *Interference Testing in Clinical Chemistry; Proposed Guideline (EP7-P)*. Villanova, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1986.
11. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995:3-500–3-506.
12. Kennedy JW, Carey RN, Coolen RB, et al. *Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (EP5-A)*. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999.
13. Kennedy JW, Carey RN, Coolen RB, et al. *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline (EP9-A)*. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1995.

TRADEMARKS

The ARCHITECT cSystem family of instruments consists of c4000, c8000, and c16000 instruments.

AEROSET, ARCHITECT, c4000, c8000, c16000, cSystem, and SmartWash are trademarks of Abbott Laboratories in various jurisdictions.

All other trademarks are property of their respective owners.



Abbott Laboratories
Abbott Park, IL 60064 USA



ABBOTT
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden
Germany
+49-6122-580

304326/R1

Anexo 2

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

NUMERO: _____

HISTORIA CLINICA: _____

EDAD: _____ SEXO: F () M ()

*EVALUACIONES DEL PERFIL HEPATICO

1° EVALUACION 2° EVALUACION 3° EVALUACION

TGO:

TGP:

FA:

GGP

PT: