



ALANINA AMINOTRANSFERASA (ALT)

Números de catálogo: 303-47
303-48
303-51
303-S1

Presentaciones: 20 x 10 mL
12 x 20 mL
10 x 6.5 mL
20 X 3 mL

USO

Equipo diagnóstico para la determinación cuantitativa *in vitro* de alanina aminotransferasa (ALT) en suero.

PRECAUCION

Evitar la ingestión y el contacto con la piel y los ojos. Almacenar a 2-8°C.

REACTIVOS

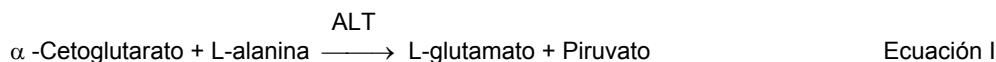
Solución que contiene (después de reconstituida): 100 mmol/L de amortiguador (pH 7.3 a 30°C), 14.9 mmol/L de 2-oxoglutarato, 500 mmol/L de L-alanina, 0.3 mmol/L de NADH, al menos 7000 U/L de lactato deshidrogenasa (*Lactobacillus*), estabilizadores y un conservador.

ANTECEDENTES

Henley y Pollard (1) así como Wroblewski y Ladue (2) desarrollaron procedimientos cinéticos para el análisis de la alanina aminotransferasa, anteriormente llamada transaminasa glutamicopirúvica (GPT). Los procedimientos se basaron en la oxidación de NADH por la lactato deshidrogenasa (LDH). Este procedimiento incorpora modificaciones importantes, incluyendo la optimización de concentraciones de sustrato y el reemplazo de fosfato con tris (hidroximetil aminometano) como amortiguador. Estas modificaciones cumplen con las recomendaciones señaladas por la Federación Internacional de Química Clínica [International Federation of Clinical Chemistry (IFCC)] para determinaciones de ALT (3,4). Las concentraciones elevadas de alanina aminotransferasa pueden deberse a un infarto del miocardio o una enfermedad hepática. A un menor grado, las altas concentraciones son indicativas de enfermedades de algunos órganos internos. (5).

PRINCIPIO

La ALT cataliza la conversión de L-alanina y α -cetoglutarato a piruvato y L-glutamato. En la reacción II, la LDH cataliza la oxidación de NADH a NAD.



El índice de reducción en absorbancia de la mezcla de reacción a 340 nm debido a la oxidación de NADH es directamente proporcional a la actividad de ALT.

PREPARACION DEL REACTIVO

Agregue agua desionizada al número requerido de viales de acuerdo al volumen indicado en la etiqueta del vial. Deje en reposo 5 minutos para que se disuelva, luego mezcle suavemente.

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO DEL REACTIVO

El reactivo incluido es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta a 2-8°C. El reactivo reconstituido es estable por 14 días a 2-8°C.

DETERIORO DEL REACTIVO

La solución del reactivo debe ser clara. Una turbidez indicaría deterioro.

El polvo del reactivo deberá ser de color crema claro y no debe indicar la presencia de humedad.

La absorbancia del reactivo leída a 340 nm contra agua desionizada, debe ser al menos de 1.2 a fin de considerarse adecuada para usarse.

INSTRUMENTOS

este reactivo fue optimizado para usarse en analizadores automatizados con uso manual opcional.

Puede usarse cualquier instrumento con control de temperatura de $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ que sea capaz de leer la absorbancia con exactitud, con una sensibilidad de 0.001 de absorbancia a 340 nm. El ancho de banda debe ser de 10 nm ó menos, la desviación de la luz de 0.5% ó menos y la exactitud de longitud de onda dentro de 2 nm.

RECOLECCION Y PREPARACION DE LA MUESTRA

La muestra de elección debe ser suero fresco, claro y no hemolizado. Las muestras para análisis deben almacenarse a una temperatura de 2-8°C y son estables hasta por siete días.

SUBSTANCIAS DE INTERFERENCIA

Este procedimiento mide la ALT total. Debido a que los glóbulos rojos contienen altas concentraciones de ALT, la hemólisis puede elevar los resultados.

Se puede encontrar un resumen sobre la influencia de las drogas en pruebas clínicas de laboratorio consultando el Young, D.S. (5).

PROCEDIMIENTO

Materiales Proporcionados

Se proporciona el reactivo necesario para la determinación de ALT.

Materiales Requeridos

1. Un instrumento que reúna los requisitos mencionados en la sección de Instrumentos.
2. Cubetas de 1 cm ó una celda de flujo capaz de transmitir luz a 340 nm.
3. Tubos de ensaye con capacidad de 4 mL.
4. Pipetas capaces de dispensar 3.0 mL y 200 μL .
5. Agua desionizada para reconstituir al reactivo y para preparar el blanco de reactivo.
6. Un calibrador para medir una incubación de 3-5 minutos.

Condiciones

| | |
|---------------------------------|-------------------|
| Longitud de onda | 340 nm |
| Temperatura | 30 ó 37°C |
| Paso de luz | 1 cm |
| Tipo de reacción | Cinética |
| Tiempo de reacción | 3-5 minutos |
| Volumen de la muestra | 200 μL |
| Volumen de reactivo | 3.0 mL |
| Volumen total | 3.2 mL |
| Relación muestra/reactivo | 1/15 |

Procedimiento

1. Prepare el volumen requerido de reactivo.
2. En tubos de ensaye por separado, pipetee 200 μL de agua desionizada, del control ó del suero que será analizado.
3. Agregue 3.0 mL del reactivo, mezcle e incube de 3 a 5 minutos. El tiempo de incubación se reducirá si el reactivo es precalentado a la temperatura de incubación.
4. Anote la absorbancia a intervalos de un minuto hasta que el cambio de absorbancia sea constante.

CALIBRACION

No se requiere de un estándar para calibrar el procedimiento de ALT. Los resultados se calculan utilizando la fórmula dada.

CONTROL DE CALIDAD

Se deben analizar un suero control a nivel normal y otro a nivel anormal con cada serie de muestras y los resultados deben caer dentro de ± 2 desviaciones estándar del valor establecido.

CALCULO Y RESULTADOS

Resultados

La actividad de la ALT se expresada en U/L.

Cálculo

$$\begin{aligned} \text{Alanina aminotransferasa U/L} &= \frac{\Delta A/\text{min} \times \text{volumen del análisis (mL)} \times 1000}{6.22 \times \text{paso de luz (cm)} \times \text{volumen de la muestra (mL)}} \\ &= \Delta A/\text{min} \times 2572 \end{aligned}$$

| | |
|-------------------------|--|
| $\Delta A/\text{min}$. | = cambio de absorbancia por minuto |
| Volumen del análisis | = volumen de la reacción total expresado en mL |
| 1000 | = convierte U/mL a U/L |
| 6.22 | = coeficiente de absorbancia de NADH a 340 nm |
| Paso de Luz | = distancia del paso de luz expresado en cm (usualmente 1.0) |
| Volumen de muestra | = volumen de muestra expresado en mL |
| 2572 | = factor derivado de las constantes en la ecuación |

Ejemplo

$$\begin{aligned} \text{Alanina aminotransferasa U/L} &= \frac{0.011 \times 3.2 \times 1000}{6.22 \times 1 \times 0.2} \\ &= 0.011 \times 2572 \\ &= 28 \text{ U/L} \end{aligned}$$

| | |
|-------|--|
| 0.011 | = cambio de absorbancia por minuto |
| 3.2 | = volumen de la reacción total expresada en mL |
| 1000 | = convierte U/mL a U/L |
| 6.22 | = coeficiente de absorbancia de NADH a 340 nm |
| 1 | = largo del paso de la luz expresado en cm |
| 0.2 | = volumen de la muestra expresado en mL |
| 2572 | = factor derivado de las constantes en la ecuación |

Limitaciones

Una muestra con una concentración de ALT que exceda el límite de linealidad, deberá diluirse con solución salina a 0.9% y reanalizarse incorporando el factor de dilución en el cálculo del valor. Una $\Delta A/\text{min}$ que sobrepase 0.048 pudiera representar una actividad de la alanina aminotransferasa que excede las 125 U/L.

VALORES ESPERADOS (6,7,8)

Hasta 25 U/L (30°C)

Hasta 37 U/L (37°C)

Se sugieren estos valores como referencia. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios rangos normales para el área donde está localizado.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Estas características de rendimiento del método se generaron en los laboratorios DCL usando procedimientos automatizados.

Rango Lineal

El procedimiento manual es lineal hasta 125 U/L. La linealidad, usando procedimientos automatizados, dependerá de la relación muestra/reactivo utilizada.

Estudios de Precisión

La precisión de un día a otro se estableció analizando 2 sueros control, dos veces al día por 10 días.

| ALT | Media U/L | Desviación Estándar U/L | Coefficiente de Variación % |
|---------|-----------|-------------------------|-----------------------------|
| Suero 1 | 26 | 1.3 | 5.0 |
| Suero 2 | 72 | 2.2 | 3.1 |

La precisión dentro de la corrida se estableció analizando 2 sueros control 25 veces cada uno.

| ALT | Media U/L | Desviación Estándar U/L | Coefficiente de Variación % |
|---------|-----------|-------------------------|-----------------------------|
| Suero 1 | 24 | 0.9 | 3.8 |
| Suero 2 | 69 | 0.9 | 1.3 |

Exactitud

Se hizo una comparación entre este método y un método cinético similar usando 84 muestras que oscilaron de 13 U/L a 509 U/L. El coeficiente de correlación fue de 0.9991. El análisis de regresión lineal dio la siguiente ecuación:

$$\text{Este método} = 1.02 (\text{método de referencia}) + 0.55 \text{ U/L.}$$

REFERENCIAS

1. Karmen, A., Wroblewski, F., Ladue, J. Transaminase Activity in Human Blood, J. Clin. Invest. 34, 126 (1955).
2. Bergmeyer, H.U., Bowers, G.N., Horder, M., Moss, D.W. Provisional Recommendations on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentrations of Enzymes, Part 2 IFCC Method For Aspartate Aminotransferase, Clin. Chem. 23, 887 (1977).
3. Lines, J.G., Dennis, P.M., deCediel, N., Khayat, M.H., Krawczynski, M.J., (Editors), ALT and Alt Methods Approved, IFCC News, No. 40 (1985/), p.10.
4. Tietz, N.W., (Editor). Fundamentals of Clinical Chemistry (1982), W.B. Saunders Company, Toronto.
5. Young, D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, AACC Press, Washington, Third Edition, 1990.

6. Tietz, N.W., (Editor) Clincial Guide to Laboratory Tests, W.B. Saunders Company, Philadelphia (1983) p.338.
7. Thefeld, W., et. al., Dtsch. Med. Wschr. 99, 343 (1974).
8. Wallnofer, H., Schmidt, E., Schmidt, F.W., eds. Synopsis der Leberkrankheiten, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1974).

IN30342-16

Abril 18, 2006