



ALANINA AMINOTRANSFERASA (ALT) -SL

Números de catálogo: 318-10
318-30
318-50A
318-50B

Presentaciones: R1: 1 x 100 mL, R2: 1 x 25 mL
R1: 3 x 100 mL, R2: 1 x 75 mL
1 x 1000 mL
1 X 300 mL

USO

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

PRECAUCION

Evite la ingestión y el contacto con la piel y los ojos. Consulte la Hoja de Seguridad del Producto.

REACTIVOS

Reactivo Enzimático de ALT-SL (R1): solución que contiene un amortiguador (pH 7.5 a 25°C), 500 mmol/L de L-alanina, >1200 U/L de lactato deshidrogenasa (bacteriana) y un conservador.

Reactivo Sustrato de ALT-SL (R2): solución que contiene 15 mmol/L de 2-oxoglutarato, 0.18 mmol/L de NADH, y un consevador.

ANTECEDENTES

Henley y Pollard (1) así como Wroblewski y Ladue (2) desarrollaron procedimientos cinéticos para el análisis de 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 que incluyen la optimización de las concentraciones de sustrato y el reemplazo de fosfato con tris (hidroximetil aminometano) como amortiguador. Estas modificaciones cumplen con las recomendaciones señaladas por la 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. En casos de necrosis hepática, las elevaciones en la concentración de ALT se presentan previas al comienzo de los síntomas clínicos como ictericia. 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

Los reactivos suministrados están listos para usarse. Puede prepararse un solo reactivo de trabajo mezclando 4 partes de reactivo R1 con una parte de reactivo R2

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO DEL REACTIVO

Los reactivos suministrados son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta a 2-8°C. El reactivo de trabajo es estable por 14 días a 2-8°C.

DETERIORO DEL REACTIVO

Las soluciones de reactivo deben ser claras. Una turbidez indicaría deterioro.

INSTRUMENTOS

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 es suero fresco, claro y no hemolizado. La ALT es estable por 24 horas a 20-25°C y 7 días a 2-8°C. (6)

SUBSTANCIAS DE INTERFERENCIA

Este procedimiento determina ALT total. Los eritrocitos contienen altas concentraciones de ALT y, por tanto, la hemólisis puede elevar los resultados.

Se evaluaron las interferencias por ictericia y lipemia para este método en un analizador Hitachi utilizando un criterio de significancia de variación $>10\%$ a partir del control. No se encontró interferencia importante por ictericia con este método. Se analizaron concentraciones de bilirrubina de 0-684 $\mu\text{mol/L}$ (0-40 mg/dL) en una muestra de ALT de 62 U/L.

Se evaluó la interferencia por lipemia utilizando muestras de intralípidos da concentraciones de 0-1000 mg/dL [0-33.9 mmol/L (0-3000 mg/dL) de triglicéridos] con resultados aceptables a una concentración de intralípidos de 400 mg/dL (13.6 mmol/L [1200 mg/dL] de triglicéridos). A una concentración de intralípidos de 400 mg/dL (13.6 mmol/L [1200 mg/dL] de triglicéridos). se observó una interferencia negativa de 7% con una muestra de ALT de 100 U/L. Se puede encontrar un resumen sobre la influencia de las drogas en pruebas clínicas de laboratorio consultando el Young, D.S. (7).

PROCEDIMIENTO

Materiales Proporcionados

Se suministran los reactivos necesarios 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 o una celda de flujo capaz de transmitir luz a 340 nm.
3. Tubos de ensaye con la capacidad adecuada.
4. Pipetas con la capacidad adecuada.
5. Un cronómetro adecuado.

Condiciones

	Genéricas	Analizador automatizado
Longitud de onda	340 nm	340 nm
Temperatura	30°C o 37°C	37°C
Paso de luz	1 cm	
Tipo de reacción	Cinética	Cinética
Tiempo de reacción	3-5 minutos	10 minutos
Volumen de la muestra	50 μL	20 μL
Volumen de reactivo	1.0 mL	R1 280 μL ; R2 70 μL
Volumen total	1.050 mL	370 μL
Relación muestra/reactivo	1:20	1:14:3.5

Procedimiento

1. Prepare el volumen requerido de reactivo de trabajo como se indica en la sección Preparación de Reactivo.
2. En tubos de ensayo por separado, pipetee 50 μL de control o suero que será analizado.
3. Agregue 1.0 mL de reactivo de trabajo a cada tubo.
4. Mezcle e incube de 3 a 5 minutos. El tiempo de incubación se reducirá si el reactivo es precalentado a la temperatura de incubación.
5. Registre 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 son calculados usando el coeficiente de extinción molar y la fórmula dada.

CONTROL DE CALIDAD

Se deben analizar sueros control a nivel normal y otro anormal con cada corrida 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 expresa en unidades por litro U/L.

Cálculo

$$\begin{aligned} \text{Alanina aminotransferasa U/L} &= \frac{\Delta A/\text{min} \times \text{volumen del análisis (mL)} \times 1000}{6.22 \times \text{paso de luz (cm)} \times \text{volumen de la muestra (mL)}} \\ &= \Delta A/\text{min} \times 3376 \end{aligned}$$

$\Delta A/\text{min}$.	= 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
3376	= factor derivado de las constantes en la ecuación

Ejemplo

$$\begin{aligned} \text{Alanina aminotransferasa U/L} &= \frac{0.022 \times 1.05 \times 1000}{6.22 \times 1.0 \times 0.05} \\ &= 0.022 \times 3376 \\ &= 74 \text{ U/L} \end{aligned}$$

0.022	= cambio de absorbancia por minuto
1.05	= 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
1.0	= largo del paso de la luz expresado en cm
0.05	= volumen de la muestra expresado en mL
3376	= 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.

VALORES ESPERADOS (8)

Recién nacidos: 7-40 U/L (37°C)

Adultos: 10-35 U/L (37°C)

Las concentraciones de ALT en hombres por lo general son las altas que en las mujeres.

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 a menos que se indique lo contrario.

Estudio de Recuperación

Se agregó alanina aminotransferasa a un grupo de sueros humanos para aumentar la concentración de ALT en 77 U/L y 153 U/L. La recuperación de ALT agregada promedió 100.3%.

Rango Reportable (NCCLS EP6-P)

El rango reportable utilizando procedimientos automatizados dependerá de la proporción muestra/reactivo utilizada. El procedimiento automatizado descrito dio un rango reportable de 10-600 U/L.

Estudios de Precisión (NCCLS EP5-T2)

Se recopilaron los datos de sueros control utilizando un solo lote de reactivo en 40 corridas llevadas a cabo durante 20 días.

Nivel U/L	DE Total	CV Total %	DE durante la corrida U/L	CV durante la corrida %
46	1.7	3.6	1.1	2.4
144	3.5	2.5	1.1	0.7

Exactitud (NCCLS EP9-P)

Se comparó el rendimiento de este método (y) con el de un método similar para ALT (x) en un analizador Hitachi. Las muestras de suero de 49 pacientes que oscilaron de 12-304 U/L dieron un coeficiente de correlación de 0.9941. El análisis de regresión lineal dio la siguiente ecuación:

$$\text{Este método} = 1.06 (\text{método de referencia}) + 2.8 \text{ U/L.}$$

REFERENCIAS

1. Henley, K.S., Pollard, H.M. A New Method for the Determination of Glutamic Oxalacetic and Glutamic Pyruvic Transaminase in Plasma, J. Lab. and Clin. Med., 46, 785 (1955).
2. Wroblewski, F., Ladue, J.S. Serum Glutamic Pyruvic Transaminase in Cardiac and Hepatic Disease, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 91, 569 (1956).
3. Bergmeyer, H.U., and Horder, M. IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes, Part 3 IFCC Method For Alanine Aminotransferase, J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 18, 521 (1980).
4. Lines, J.G., Dennis, P.M., deCediel, N., Khayat, M.H., Krawczynski, M.J., (Editors), AST and ALT Methods Approved, IFCC News, No. 40 (1985/2), p. 10.
6. Burtis, C.A., Ashwood, E.R. (Ed.), Tietz Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Co., Toronto, p. 790-791 (1994).

7. Kaplan, Lawrence A. and Pesce, Amadeo J., (Ed), Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation, 3rd ed. Mosby-Year Book Inc., St. Louis, Missouri (1996), p. 518.
8. Young, D.S. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, AACC Press, Washington, Third Edition (1990).
9. Burtis, C.A., Ashwood, E.R. (Ed.), Tietz Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Co., Toronto, p.797 (1994).

IN31810-4

Febrero 27, 2003