

COD 11832 1 x 50 mL	COD 11533 1 x 200 mL	COD 11568 1 x 500 mL	COD 11562 1 x 1 L
CONSERVAR A 2-8°C			
Reactivos para medir la concentración de ALT/GPT Sólo para uso <i>in vitro</i> en el laboratorio clínico			

ALANINE AMINOTRANSFERASE (ALT/GPT)



ALANINA AMINOTRANSFERASA (ALT/GPT) IFCC

FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La alanina aminotransferasa (ALT o GPT) cataliza la transferencia del grupo amino de la alanina al 2-oxoglutarato, formando piruvato y glutamato. La concentración catalítica se determina, empleando la reacción acoplada de la lactato deshidrogenasa (LDH), a partir de la velocidad de desaparición del NADH, medido a 340 nm^{1,2,3}.



CONTENIDO

	COD 11832	COD 11533	COD 11568	COD 11562
A. Reactivo	1 x 40 mL	1 x 160 mL	1 x 400 mL	1 x 800 mL
B. Reactivo	1 x 10 mL	1 x 40 mL	1 x 100 mL	1 x 200 mL

COMPOSICIÓN

- A. Reactivo: Tris 150 mmol/L, L-alanina 750 mmol/L, lactato deshidrogenasa > 1350 U/L, pH 7,3.
B. Reactivo: NADH 1,3 mmol/L, 2-oxoglutarato 75 mmol/L, hidróxido sódico 148 mmol/L, sodio azida 9,5 g/L.

Nocivo (Xn): R22: Nocivo por ingestión. R31: En contacto con ácidos libera gases tóxicos. S28.1: En caso de contacto con la piel, lávese inmediata y abundantemente con agua. S45: En caso de accidente o malestar, acuda inmediatamente al médico.

CONSERVACIÓN

Conservar a 2-8°C.

Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, siempre que se conserven bien cerrados y se evite la contaminación durante su uso.

Indicaciones de deterioro:

- Reactivos: Presencia de partículas, turbidez, absorbancia del blanco inferior a 1,200 a 340 nm (cubeta de 1 cm).

REACTIVOS AUXILIARES

- C. Reactivo (cod 11666): Fosfato de piridoxal 10 mmol/L. 5 mL.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Reactivo de Trabajo: Vaciar el contenido del frasco B en el frasco A. Agitar suavemente. Si se desea preparar otros volúmenes, mezclar en la proporción: 4 mL de Reactivo A + 1 mL de Reactivo B. Estable 2 meses a 2-8°C.

Reactivo de Trabajo con Fosfato de Piridoxal (Nota 1): Mezclar en la proporción: 10 mL de Reactivo de Trabajo + 0,1 mL de Reactivo C (cod 11666). Estable 6 días a 2-8°C.

EQUIPO ADICIONAL

- Analizador, espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatable a 30 ó 37°C para lecturas a 340 nm
- Cubetas de 1 cm de paso de luz.

MUESTRAS

Suero recogido mediante procedimientos estándar.

La alanina aminotransferasa en suero es estable 7 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Precalentar el Reactivo de Trabajo y el instrumento a la temperatura de reacción.
- Pipetear en una cubeta: (Nota 2)

Temperatura de reacción	37°C	30°C
Reactivo de Trabajo	1,0 mL	1,0 mL
Muestra	50 µL	100 µL

- Mezclar e insertar la cubeta en el fotómetro. Poner el cronómetro en marcha.
- Pasado 1 minuto (Nota 1), anotar la absorbancia inicial y efectuar nuevas lecturas cada minuto durante 3 minutos.
- Calcular el incremento de absorbancia por minuto promedio ($\Delta A/\text{min}$).

CÁLCULOS

La concentración de ALT/GPT en la muestra se calcula a partir de la siguiente fórmula general:

$$\Delta A/\text{min} \times \frac{V_t \times 10^6}{\epsilon \times l \times V_s} = \text{U/L}$$

El coeficiente de absorción molar (ϵ) del NADH a 340 nm es 6.300, el paso de luz (l) es 1 cm, el volumen total de reacción (V_t) es 1,05 a 37°C y 1,1 a 30°C, el volumen de muestra (V_s) es 0,05 a 37°C y 0,1 a 30°C, y 1 U/L equivale a 0,0166 $\mu\text{kat/L}$. Se deducen los siguientes factores para calcular la concentración catalítica:

	37°C	30°C
$\Delta A/\text{min}$	$\times 3333 = \text{U/L}$ $\times 55,55 = \mu\text{kat/L}$	$\times 1746 = \text{U/L}$ $\times 29,1 = \mu\text{kat/L}$

VALORES DE REFERENCIA

Temperatura de reacción	37°C	30°C
Sin fosfato piridoxal, hasta ^{1,3}	41 U/L = 0,68 $\mu\text{kat/L}$	29 U/L = 0,48 $\mu\text{kat/L}$
Con fosfato piridoxal, hasta ^{1,2}	65 U/L = 1,08 $\mu\text{kat/L}$	35 U/L = 0,58 $\mu\text{kat/L}$

Las concentraciones en niños y recién nacidos son ligeramente superiores a las de adultos. Se encuentran valores ligeramente más elevados en hombres que en mujeres.

Estos valores se dan únicamente a título orientativo; es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso de los Sueros Control Bioquímica niveles I (cod. 18005, 18009 y 18042) y II (cod. 18007, 18010 y 18043), para verificar la funcionalidad del procedimiento de medida.

Cada laboratorio debe establecer su propio programa de Control de Calidad interno, así como procedimientos de corrección en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias aceptables.

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

- Límite de detección: 1,6 U/L = 0,027 $\mu\text{kat/L}$
- Límite de linealidad: 500 U/L = 8,33 $\mu\text{kat/L}$. Cuando se obtengan valores superiores, diluir la muestra 1/10 con agua destilada y repetir la medición.

Repetibilidad (intra-serie):

Concentración media	CV	n
43 U/L = 0,72 $\mu\text{kat/L}$	1,8 %	20
192 U/L = 3,2 $\mu\text{kat/L}$	2,8 %	20

Reproducibilidad (inter-serie):

Concentración media	CV	n
43 U/L = 0,72 $\mu\text{kat/L}$	5,3 %	25
192 U/L = 3,2 $\mu\text{kat/L}$	2,7 %	25

Sensibilidad: 0,3 $\Delta\text{mA}\cdot\text{L}/\text{U}\cdot\text{min} = 0,00502 \Delta\text{mA}\cdot\text{L}/\mu\text{kat}\cdot\text{min}$

Veracidad: Los resultados obtenidos con estos reactivos no muestran diferencias sistemáticas significativas al ser comparados con reactivos de referencia. Los detalles del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.

Interferencias: La hemólisis (hemoglobina 10 g/L) y la bilirrubina (20 mg/dL) no interfieren. La lipemia (triglicéridos 2 g/L) puede afectar los resultados. Otros medicamentos y sustancias pueden interferir⁴.

Estos datos han sido obtenidos utilizando un analizador. Los resultados pueden variar al cambiar de instrumento o realizar el procedimiento manualmente.

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

Las aminotransferasas catalizan la formación de ácido glutámico a partir de 2-oxoglutarato mediante la transferencia de grupos amino. La ALT se encuentra en diferentes tejidos aunque sus mayores concentraciones se hallan en hígado y riñón.

Se observan concentraciones séricas elevadas de ALT en hepatitis y otras enfermedades hepáticas asociadas con necrosis: mononucleosis infecciosa, colestasis, cirrosis, carcinoma metastásico del hígado, delirium tremens, así como después de la administración de algunos medicamentos como opiáceos, salicilatos o ampicilina^{5,6}.

También pueden encontrarse concentraciones séricas elevadas de ALT en enfermedades del músculo esquelético o cardíaco^{5,6}.

El diagnóstico clínico no debe realizarse teniendo en cuenta el resultado de un único ensayo, sino que debe integrar los datos clínicos y de laboratorio.

NOTAS

- La IFCC recomienda la utilización de fosfato de piridoxal. En este caso, el tiempo de preincubación antes de iniciar el período de mediciones, se debe aumentar a 2 minutos.
- Estos reactivos pueden utilizarse en la mayoría de analizadores automáticos. Solicite información a su distribuidor.

BIBLIOGRAFÍA

- Sociedad Española de Química Clínica, Comité Científico, Comisión de Enzimas. Método recomendado para la determinación en rutina de la concentración catalítica de la alanina aminotransferasa en suero sanguíneo humano. *Quim Clin* 1987; 6: 241-244.
- Approved Recommendation (1985) on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes. Part 3: IFCC Method for Alanine Aminotransferase (EC 2.6.1.2). *J. Clin Chem Clin Biochem* 1986; 24: 481-495.
- Gella FJ, Olivella T, Cruz Pastor M, Arenas J, Moreno R, Durban R and Gómez JA. A simple procedure for routine determination of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase with pyridoxal phosphate. *Clin Chim Acta* 1985; 153: 241-247.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.