

IMPORTANCIA CLINICA

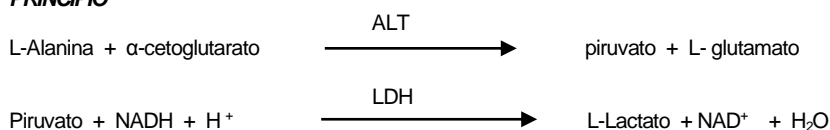
ALT comúnmente está distribuida en tejidos, con las concentraciones más altas en hígado y riñones. Además, ALT se considera más específica del hígado que AST. Niveles elevados de ALT son observados frecuentemente sólo en enfermedades hepáticas tales como cirrosis, hepatitis, o carcinoma metastático. No obstante, también puede haber niveles elevados de ALT con mononucleosis infecciosa, distrofia muscular, y dermatomitos.

HISTORIA DEL METODO

En 1965 Henley y en 1956 Wroblewsky y La Due, describieron métodos UV para la determinación de ALT.

El procedimiento fue improvisado y optimizado por Henry en 1960. En 1974 la Sociedad Escandinava para la Química Clínica recomendó optimizar las condiciones de reacción. La IFCC publicó en 1980 un método utilizando un ensayo acoplado LDH-NADH. El procedimiento descrito adelante está basado en este método.

PRINCIPIO



ALT cataliza la transferencia del grupo amino de L-alanina a α -cetoglutarato resultando en la formación de piruvato y L-glutamato. La LDH cataliza la reducción del piruvato y la oxidación simultánea de NADH a NAD. La razón resultante en el decremento de la absorbancia es directamente proporcional a la actividad de ALT.

REACTIVOS

Después de combinar R1 y R2 el reactivo contiene: L-alanina 500 mM; ácido α -cetoglutarico 15 mM; LDH (microbial) >2000 UI/L; NADH 0.18 mM; buffer 100 mM, pH 7.4 - 7.6; Azida de sodio 0.01 %; Estabilizadores.

El reactivo de trabajo se prepara mezclando 5 partes de R1 y 1 parte de R2.

El reactivo de trabajo es estable 48 horas a temperatura ambiente y hasta 14 días en refrigeración.

No utilice el reactivo si:

La absorbancia inicial a 340 nm es menor a 0.800.

El reactivo no ofrece los resultados que establecen los parámetros.

INTERFERENCIAS

Algunas drogas interfieren en la actividad de ALT.

Se ha encontrado que bilirrubinas de por lo menos 30 mg/dL o hemoglobinas de por lo menos 400 mg/dL tienen un efecto insignificante en esta prueba.

MATERIAL

Reactivos R1 Y R2 de ALT

MATERIAL REQUERIDO, NO SUMINISTRADO

Pipetas automatizadas

Cronómetro

Tubos de ensayo

Espectrofotómetro con capacidad de leer a 340 nm (UV)

Bloque térmico

PROCEDIMIENTO (AUTOMATIZADO GENERAL)

Longitud de onda	340 nm
Tipo de ensayo	cinético
Razón muestra/ reactivo	1:10
Dirección de la reacción	decreciente
Temperatura	37°C
Tiempo lag	60 segundos
Tiempo de lectura	60 segundos
Valor normal bajo	4 U/L
Valor normal alto	36 U/L

PROCEDIMIENTO (MANUAL)

1. Prepare el reactivo de acuerdo al instructivo
2. Pipetee 1 mL de reactivo de trabajo en cada tubo.
3. Pre-caliente por lo menos 5 minutos a 37 °C.
4. Agregue 100 µL de suero a los tubos respectivos y mezcle. Incube todos los tubos a 37 °C por 1 minuto.
5. Después de un minuto lea y anote la absorbancia a 340 nm contra blanco de agua. Vuelva a hacer lecturas a los 60 y 120 segundos.
6. Calcule la diferencia de absorbancias absorbancia / minuto. Esta diferencia se multiplica por el factor 1768 y así se obtiene el resultado en U/L.

CALIBRACIÓN

El procedimiento está estandarizado por la media de la absorptividad de NADH tomada como 6.22 a 340 nm bajo las condiciones de prueba descritas.

LIMITACIONES

Muestras altamente ictericas o turbias pueden dar lecturas en las cuáles la absorbancia inicial excede la capacidad del espectrofotómetro. Se pueden obtener mejores resultados usando 50 µL de suero y multiplicando el resultado final por 2.

Muestras con valor arriba de 500 U/L deben ser diluidas 1:1 con solución salina, reensayadas, y el resultado se multiplica por 2.

CALCULOS

Una unidad internacional (U/L) está definida como la cantidad de enzima que cataliza la transformación de un micromol de sustrato por minuto bajo condiciones específicas.

$$\text{ALT (U/L)} = \frac{\Delta \text{ Abs/min} * 1.10 * 1000}{6.22 * 0.10 * 1.0} = \Delta \text{ Abs/min} * 1768$$

donde:

Δ Abs/min = cambio de absorbancia por minuto

1000 = conversión U/mL a U/L

1.10 = volumen total de reacción (mL)

6.22= absorptividad molar de NADH

0.10 = volumen de muestra (mL)

1.0 = paso de luz en cm

CONTROL DE CALIDAD

Se debe correr rutinariamente sueros control normal y anormal con concentraciones conocidas para monitorear la validez de la reacción. Estos controles se deben correr por lo menos cada vez que se vayan a procesar determinaciones de ALT. Se recomienda que cada laboratorio tenga su propia frecuencia de determinación de control.

VALORES ESPERADOS

4 -24 U/L (30°C)

4 -36 U/L (37°C)

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

LINEARIDAD

0-500 U/L

FABRICADO POR:

**POINTE SCIENTIFIC, INC.
E.E.U.U.**
