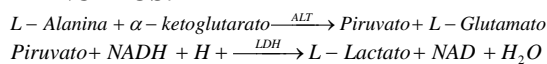


REACTIVO DE ALT (SGPT)**USO:**

Para la determinación cuantitativa de Alanina Aminotransferasa en suero.

HISTORIA DEL METODO:

Los metodos UV para determinar ALT fueron descritos por Henley en 1955 y Wroblewski y la Dueen en 1956. El procedimiento se mejoró por Henry en 1960. En 1974 la sociedad escandinava de Química clínica remendó condiciones de reacción optimizadas. La Federación internacional de Química Clínica (IFCC) publicó en 1980 un método propuesto recomendado utilizando la LDH-NADH. Este procedimiento se basa en aquel método.

PRINCIPIOS:

El ALT cataliza el cambio del grupo Amino de L-Alanina a-ketoglutarato resultando en la formación de piruvato y L-Glutamato. El Lactato Deshidrogenasa cataliza la reduccion de Piruvato y la oxidacion simultánea de NADH y NAD.

La disminución en la absorción es directamente proporcional a la actividad de ALT.

REACTIVOS:

Las concentraciones se refiere al reactivo reconstituido: Acido a-Ketoglutarico 13 mM. D-Alanina 400 mM. NADH 0.2 mM., LDH 1200 U/L Tris Buffer, PH 7.5 ± 0.1 estabilizador.

PRECAUCION:

Este reactivo es para diagnostico "In Vitro" solamente.

PREPARACION DE REACTIVOS:

Reconstituya el vial con agua destilada segun la etiqueta, agite lentamente hasta su completa solución.

ALMACENAMIENTO DE REACTIVO:

- 1) Almacenarse el reactivo seco a 2-8°C. (refrigerado)
- 2) El reactivo reconstituido es estable por 30 días si es inmediatamente refrigerado, y 48 hrs. a temperatura ambiente.

DETERIORO DEL REACTIVO:

El reactivo no debe usarse si tiene una absorción inicial menor de 0.8 a 340 nm

COLECCION Y ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA:

- 1) Las muestra hemolizadas no se pueden usar ya que los glóbulos rojos contienen ALT .
- 2) La ALT en suero es estable 3 días a temperatura ambiente, 7 días refrigerado y 30 días congelado.

INTERFERENCIAS:

Un numero de drogas y sustancias afectan la actividad del ALT. Vea Young.

MATERIALES PROVISTOS:

Reactivo (SGPT) ALT.

MATERIALES NO PROVISTOS:

- 1) Instrumentos de pipeteo .
- 2) Tubos y/o gradilla .
- 3) Cronómetro.
- 4) Espectrofotometro con capacidad para leer a 340 nm (uv)
- 5) Baño maria, block (37 °C.)

PROCEDIMIENTO AUTOMATIZADO:

Vea las instrucciones especificas de cada instrumento.

PROCEDIMIENTO MANUAL:

- 1) Reconstituya de acuerdo a instrucciones.
- 2) Pipeteo 1.0 ml. de reactivo en los tubos apropiados y pre incube a 37 °C durante cinco minutos.
- 3) Ponga el espectrofotómetro en cero a 340 nm, con agua.
- 4) Transfiera 0.10 ml. (100ul) de muestra al reactivo, mezcle e incube a 37 °C por 1 minuto.
- 5) Después de un minuto lea y anote la absorbancia , regrese el tubo al baño de 37 °C , repita las lecturas cada minuto durante los próximos dos minutos.
- 6) Calcule la diferencia de absorción por minuto (Δ ABS/min)
- 7) La ΔABS/min multipliquela por el factor 1768 (cálculos) los resultados seran IU/L
- 8) Las muestras con valores sobre 500 IU/L pueden ser diluidas 1:1 con solución salina, córralos nuevamente y el resultado multipliquelo por dos.

NOTAS DE PROCEDIMIENTO:

- 1) Si el espectro esta equipado con temperatura controlada, la mezcla debe dejarse en la cubeta mientras se toman todas las lecturas.
- 2) Las muestras turbias altamente ictericas pueden dar lecturas que exceden la capacidad del espectrofotómetro. Se pueden obtener resultados mas precisos, usando 0.05 ml. (50ul) de muestra y multiplicando el resultado por dos.
- 3) Una lectura final muy baja, junto con un cambio pequeño en las lecturas pueden indicar un nivel muy

alto de ALT. Diluya y corra de nuevo como en el paso 8.

CALIBRACION:

Este procedimiento es estandarizado por la absorción milimolar del NADH tomada como 6.22 a 340 nM bajo condiciones de pruebas descritas.

CONTROL DE CALIDAD:

La validez de la reacción debe de ser monitoreada por el uso de Suero Control Normal y Anormal.

CALCULOS:

La unidad internacional (IU/L) se define como la cantidad de enzima que cataliza la transformación de un micromol de sustrato por minuto bajo condiciones especificas.

$$ALT(IU / L) = \frac{\Delta Abs. / min \times 1.10 \times 1000}{6.22 \times 0.10 \times 1.0} = \Delta Abs. / min. \times 1768$$

DONDE:

- Δ ABS/MIN= Diferencia de abosrbancia por minuto.
- 1.10 = Volumen de reacción tota l.(ml)
- 1000= Conversión de IU/ml a IU/L
- 6.22= Absorción milimolar de NADH
- 0.10= Volumen de la muestra (ml)
- 1.0 = Trayecto de la luz (cm)

UNIDADES SI = Para convertir unidades si (nkat/L) multiplique IU/L por 16.67

NOTA:

Si alguno de los parámetros es alterado utilice la formula anterior

VALORES ESPERADOS:

Arriba de 26 IU/L (30° C)
Arriba de 38 IU/L (37° C)
Se recomienda que cada laboratorio establezca en su rango de valor normal.

DESEMPEÑO:

1. Linearidad : 500 IU/L
2. Comparación : Coeficiente de correlación 0.999 y una ecuación de regresión equivalente a Y= 0.95 x 3.6
3. PRECISION:

Entre Prueba			Prueba a Prueba		
Conc.	D.E.	C.V%	Conc.	D.E.	C.V%
25	2.1	8.4	28	1.8	6.4
84	2.3	2.7	84	3.0	3.6

REFERENCIAS:

- 1) Henley, K.S., Pollard, H.M., J. Lab. Clin. Med. 46:785 (1955)
- 2) Wroblewski, F., La Due, J.S., Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 91:569 (1956)
- 3) Henry, R.J. et al , Am. J . Clin. Path. 34:381 (1960)

- 4) Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry end Clinical Physiology, Scand, J. Clin. Lab. 32:291 (1974)
- 5) Clinica Chimica Acta 105:145F-172F (1980)
- 6) Henry , R.J., Clinical Chemistry : Principles and Technics, Harper end ROW, New York, p 522 (1968)
- 7) Young , D.S. et al, Clin Chem . 21:1D (1975)
- 8) Tietz N. W. Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Co., Phila., p 682 (1976)

REV 3/90

DISTRIBUIDO POR:

	DISTRIBUOTOR:
	MYM Laboratory & Medical Supply, Inc. 8684 Ave. de la Fuente Ste. 14 San Diego CA. 92154 Tel. (619) 710-0126 Fax. (619) 710-0297 www.mymssupply.com email: mail@mymssupply.com