



**TECO GRAM S.A.**  
Av. San Jorge 428 y 10ma.  
Guayaquil - Ecuador  
042396966 – 042397979 – 042396610  
tecogram@gye.satnet.net

## **Juego de Reactivos para Aspartato Aminotransferasa (T.G.P.)**

### **INTRODUCCIÓN**

La enzima alanil aminotransferasa, conocida también como transaminaza glutámico pirúvica (TGP) aparece en una gran variedad de tejidos corporales. La mayor fuente de ALAT son los tejidos hepáticos lo que ha permitido incorporar su determinación y cuantificación en las hepatopatías. Se encuentran niveles elevados de ALAT en la hepatitis, cirrosis, y obstrucción hepatobiliar. Los niveles de ALAT son ligeramente elevados en pacientes con infarto del miocardio.

Desde 1955 varios métodos y modificaciones han tenido lugar para determinar la ALAT. Los distintos métodos generalmente se dividen en dos categorías: las calorimétricas y las ultravioletas. Se ha llegado a la conclusión de que los métodos ultravioletas son más sensibles que los colorimétricos.

Los métodos ultravioletas fueron primeramente desarrollados por Wroblewski y Laude en 1956. El método se basaba en la oxigenación de NADH por la deshidrogenasa láctica. En 1980 la federación internacional de química clínica recomendó un método de referencia para la cuantificación de ALAT basada en método Wroblewski y Laude. Este reactivo está de acuerdo con las formulaciones recomendadas por la federación internacional de química clínica.

### **PRINCIPIOS**

La secuencia de reacción enzimática utilizada en el examen de ALAT es la siguiente:

#### **ALAT**

1. Aspartato+a-Ketoglutarato--> piruvato+L-glutamato.
2. Piruvato + NADH + H<sup>+</sup> ----> L-lactato + NADH + H<sub>2</sub>O

El piruvato formado en la primera reacción se reduce a lactato en presencia de deshidrogenasa láctica y NADH a 340 nm. El piruvato endógeno de la muestra se convierte en lactato por la deshidrogenasa láctica durante la fase anterior a la lectura.

### **COMPOSICION DEL REACTIVO**

Cuando se reconstituye como esta recomendado el reactivo para Alat contiene lo siguiente:

(Las concentraciones se refieren al reactivo reconstituido).

a-Ketoglutarato 13nM, DL-Alamina 400nM, NADH 0.2nM, DHL 800U/L, Buffer 100nM, pH 7.5, Estabilizadores y preservativos no reactivantes.

### **ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES**

1. Para diagnostico "In Vitro".

**Precaución:** Los reactivos para diagnostico in vitro pueden ser dañinos, manipúlese de acuerdo con procedimientos de laboratorios adecuados entre lo que se debe considerar el evitar la ingestión y el contacto con los ojos y mucosas.

2. Las muestras deben considerarse infecciosas y deben manipularse debidamente.
3. Use agua destilada o desionizada cuando se indique.

### **ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD**

1. Mantengase en refrigeración entre 2 – 8 C.
2. El reactivo reconstituido es estable por 30 días en refrigeración y por 24 horas a temperatura ambiente.

### **DETERIORO DEL REACTIVO**

El Reactivo debe desecharse si :

1. Si aparece turbio, la turbidez puede ser un signo de contaminación.
2. Si la humedad a penetrado el frasco.
3. Cuando no encuentra Linealidad o se presenta fallos en los valores del rango establecido.
4. El reactivo reconstituido obtiene una absorbancia menor de 0.8 a 340nm. Como blanco reactivo.

### **RECOLECCON DE MUESTRAS**

En este examen debe utilizarse suero la ALAT es estable en suero en temperaturas de 4C. como mínimo 7 días. No deben usarse muestras hemolizadas pues los eritrocitos contienen hasta siete veces más actividad de ALAT que el suero.

### **SUSTANCIAS QUE INTERFIEREN**

El fosfato piroxidal puede elevar los valores de la ALAT por activación de la apoenzima formada de la transaminaza. El fosfato de peroxidal se encuentra en el agua contaminada por crecimiento bacteriano.

Niveles altos de piruvato en el suero pueden interferir también en el desarrollo del examen. Young y colaboradores brindan una lista de drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la actividad de la ALAT.

### **MATERIALES REQUERIDOS Y NO PROVISTOS**

1. Pipetas de precisión.
2. Portatubos
3. Reloj
4. Espectrofotómetro con capacidad de lectura de 340 nm (UV)

- Baño maría o bloque de calentamiento a 37C.

#### PROCEDIMIENTO MANUAL

- Reconstituya el reactivo de acuerdo a las indicaciones.
- Pipetee 1.0ml de reactivo en un tubo o cubeta de 1cm y permita que se equilibre a 37C.
- Agregue 0.10ml (100UL) de suero al reactivo y mézclelo bien.
- Incúbese a 37C después de 60 Seg. Mida la absorbancia a 340nm.
- Tome dos lecturas adicionales de absorbancia en un intervalo de un minuto. Calcule el cambio de absorbancia por minuto.
- Lea la absorbancia pasado 60seg. de la primera lectura. Reste a la absorbancia inicial la segunda absorbancia obtenida y multiplíquese por el factor 1768 para obtener UI/L de actividad de la ALAT.
- Muestras con valores de 500 UI/L deben de diluirse en proporción 1:1 con solución salina y deben ser procesadas nuevamente, y el resultado multiplicarlo por 2.

#### NOTA:

Las muestras turbias o altamente ictericas pueden dar lecturas cuyas absorbancias iniciales excedan la capacidad del espectrofotómetro. Se obtendrán resultados más precisos utilizando 0.05ml.(50ul) de muestra y multiplicando el valor final por 2.

#### CÁLCULOS

Una unidad internacional (UI) se define con la cantidad de enzima la transformación de un micromol de sustrato por minuto y en condiciones específicas.

#### EJEMPLOS DE CÁLCULOS

0,148 = Absorbancia inicial.

0,136 = absorbancia pasado un minuto

A/Min. = 0,148-0,136 = 0,012

Luego  $0,012 \times 1768 = 21,216$  UI/L

#### FACTOR DE CONVERSION PARA ESTA TÉCNICA

Unidades sistema internacional (SI): Para convertir los resultados a unidades (SI) multiplique por 16.67.

#### LIMITES DE PROCEDIMIENTO

La reacción es lineal hasta 500UI, muestras con mayores valores de 500UI, deben de diluirse con solución salina en proporción 1:1, reanalizadas y los resultados multiplicados por dos.

#### CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda incluir controles en cada corrida de muestras. Pueden utilizarse controles comerciales con valores conocidos de ALAT. El valor teórico del control debe confirmarse por el método de cálculo de ésta técnica. Fallos al obtener el rango de valores adecuados en el control sistemático puede hablar a favor de deterioro del reactivo, mal funcionamiento instrumental o errores de técnica.

- Si el examen se realiza a 37C. pero se va a reportar a 30C. multiplique los resultados por 0.7.
- Si el examen se realiza a 30C pero se van a reportar a 37C. multiplique los resultados por 1,43.

#### VALORES ESPERADOS

Hasta 26 UI/L. (30 C.)

Hasta 38 UI/L. (37 C.)

#### CARACTERISTICAS GENERALES

- Linealidad: hasta 50UI/L
- Comparación: Estudios entre este método y uno similar arrojó un coeficiente de correlación de 0.99 y una ecuación de regresión de  $Y=0.98x + 1.32$ .

#### ESTUDIOS DE LA PRECISIÓN

##### En la corrida

<u>Valor (IU/L)</u>	<u>D.S.</u>	<u>C.V.%</u>
23.6	1.8	7.9
82.6	2.1	2.5

##### De corrida a corrida

<u>Valor (UI/L)</u>	<u>D.S.</u>	<u>C.V.%</u>
23.4	1.9	8.0
82.4	1.9	2.3

#### CORRECCIÓN DE TEMPERATURA