



Transaminasas 200

Para la determinación de Transaminasa Glutámico Oxalacética (GOT(AST) y Transaminasa Glutámico Pirúvica (GPT/ALT)

SIGNIFICACION CLINICA

Las transaminasas GOT y GPT son enzimas ampliamente difundidas en el organismo con elevada concentración en corazón, hígado, músculo esquelético, riñón y eritrocitos. La actividad sérica en condiciones normales es baja o nula. Un daño o enfermedad en cualquiera de estos tejidos conduce a un aumento en los niveles séricos. Así, luego de un infarto de miocardio se produce en suero un marcado aumento de la actividad de GOT (abundante en músculo cardíaco). En hepatitis virales y otras formas de enfermedad hepática que involucren necrosis tisular, predominará la actividad sérica de GPT (abundante en tejido hepático). Una elevada actividad de transaminasas puede detectarse también en traumas accidentales o quirúrgicos y en distrofias musculares o miositis.

FUNDAMENTOS DEL METODO

La GOT cataliza la siguiente reacción:

GOT

$\text{L-aspartato} + \alpha\text{-cetoglutarato} \longrightarrow \text{glutamato} + \text{oxalacetato}$

La GPT cataliza la siguiente reacción:

GPT

$\text{L-alanina} + \alpha\text{-cetoglutarato} \longrightarrow \text{glutamato} + \text{piruvato}$

El piruvato formado (el oxalacetato es inestable y se transforma en piruvato), reacciona con la 2,4-dinitrofenilhidracina produciéndose, en medio alcalino, un compuesto coloreado que se mide a 505 nm.

REACTIVOS PROVISTOS

- **Transaminasas 200 GOT provee:**

A. Reactivo A: solución con 100 mM de L-aspartato y 2 mM de α -cetoglutarato en buffer fosfatos 100 mM, pH 7,4.

- **Transaminasas 200 GPT provee:**

A. Reactivo A: solución con 200 mM de dl-alanina y 2 mM de α -cetoglutarato en buffer fosfatos 100 mM, pH 7,4.

Además, ambos equipos proveen:

B. Reactivo B: solución conteniendo 1 mmol de 2,4-dinitrofenilhidracina (2,4-DNFH) en ácido clorhídrico 1 mol/l.

C. Reactivo C: solución de hidróxido de sodio 4 mol/l.

S. Standard: solución de piruvato de sodio 2 mmol/l. Para efectuar la curva de calibración.

REACTIVOS NO PROVISTOS

Agua destilada.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivo A (GOT o GPT): listo para usar.

Reactivo B: listo para usar.

Reactivo C diluido (0,40 mol/l): preparación:

- Trasvasar el contenido del frasco a un matraz de 1 litro.
- Lavar el frasco con un pequeño volumen de agua destilada y pasar el líquido de lavado al matraz. Repetir esta operación 3-4 veces.
- Diluir con agua destilada hasta el aforo. Tapar y mezclar bien por inversión.
- Envasar en un frasco de plástico de buen cierre (no utilizar frasco de vidrio).

Standard: listo para usar en la curva de GPT. Diluir 1:2 con Reactivo A para la curva de GOT.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Reactivo B y C: corrosivos. H315 + H320: Provoca irritación cutánea y ocular. H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. P262: Evitar el contacto con los ojos, la piel o la ropa. P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir enjuagando. P302 + P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: estables a temperatura ambiente (< 25°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Cuando el espectrofotómetro ha sido llevado a cero con agua destilada, lecturas del Blanco inferiores a 0,270 D.O. a 505 nm son indicio de deterioro del mismo. También indica deterioro la aparición de turbidez.

MUESTRA

Suero

a) Recolección: se debe obtener suero de la manera usual. No es necesario que el paciente esté en ayunas para la extracción de sangre.

b) Aditivos: no se requieren.

c) Sustancias interferentes conocidas: los sueros hemolizados producen resultados falsamente elevados ya que los glóbulos rojos contienen 3 a 5 veces más enzimas que el suero. Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: en caso de no efectuarse la determinación en el día, puede conservarse el suero refrigerado a 4°C durante no más de 5 días.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro o fotocolorímetro.
- Material volumétrico adecuado.
- Baño de agua a 37°C.
- Reloj o timer.

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 505 nm en espectrofotómetro, Hg 546 o en fotocolorímetro con filtro verde (500-550 nm).
 - Temperatura de reacción: 37°C
 - Tiempo de reacción: 40 minutos
 - Volumen de muestra: 100 ul
 - Volumen final de reacción: 6,1 ml
- Alternativamente pueden disminuirse los volúmenes de Muestra y Reactivos a la mitad.

PROCEDIMIENTO

En dos tubos marcados B (Blanco) y D (Desconocido), colocar:

	B	D
Reactivo A (GOT o GPT)	0,5 ml	0,5 ml
Colocar en baño de agua a 37°C ± 0,5°C unos minutos.		
Suero	-	100 ul
Agua destilada	100 ul	-
Mezclar por agitación suave e incubar exactamente 30 minutos y agregar:		
Reactivo B	0,5 ml	0,5 ml
Mezclar. Dejar 10 minutos a 37°C. Luego agregar:		
Reactivo C diluido	5 ml	5 ml
Mezclar por inversión y retirar del baño. Después de 2 minutos leer la absorbancia en fotocolorímetro con filtro verde (500-550 nm); en espectrofotómetro a 505 nm o Hg 546, llevando el aparato a cero D.O. con agua destilada.		

ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL

El color de la reacción es estable durante 30 minutos por lo que la absorbancia debe ser leída dentro de ese lapso.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

a) Empleando tablas de conversión:

Este cálculo se basa en la absorbancia del cromógeno y

los valores de actividad enzimática pueden deducirse de las tablas de conversión obtenidas por comparación con el método UV convencional, siempre que las lecturas se efectúen en las siguientes condiciones de medida: cubetas de caras paralelas de 1 cm de espesor, semiancho de banda ≤ 8 nm y longitud de onda 505 nm o Hg 546.

GOT (30 min):

Hg 546	Método UV convencional (U/l)	505 nm
0,020	5	0,034
0,030	7	0,047
0,040	10	0,061
0,050	14	0,080
0,060	19	0,100
0,070	23	0,115
0,080	26	0,129
0,090	31	0,146
0,100	36	0,164
0,110	41	0,180
0,120	46	0,196
0,130	50	0,210
0,140	55	0,224
0,150	61	0,239
0,160	67	0,254
0,170	74	0,269

GPT:

Hg 546	Método UV convencional (U/l)	505 nm
0,020	5	0,034
0,040	9	0,061
0,060	14	0,100
0,080	18	0,129
0,100	23	0,164
0,120	27	0,196
0,140	32	0,224
0,160	37	0,254
0,180	42	0,284
0,200	47	0,314
0,220	52	0,340
0,240	57	0,364
0,260	62	0,389
0,280	68	0,415
0,300	74	0,442
0,320	80	0,468
0,340	87	0,494
0,360	96	0,524
0,380	104	0,552

b) Empleando curva de calibración:

Emplear el Standard como se indicó en INSTRUCCIONES PARA SU USO. En 9 tubos colocar:

Tubo	Standard (ml)	Reactivo A (ml)	Aguadest. (ml)	GPT (U/l)	GOT (U/l)
1	0,00	1,00	0,2	-	-
2	0,05	0,95	0,2	9	7
3	0,10	0,90	0,2	18	12
4	0,15	0,85	0,2	25	20
5	0,20	0,80	0,2	37	28
6	0,25	0,75	0,2	46	37
7	0,30	0,70	0,2	56	48
8	0,40	0,60	0,2	79	81
9	0,50	0,50	0,2	113	-

Mezclar y agregar a cada tubo, con intervalos de 1/2 minuto entre uno y otro, 1 ml de Reactivo B. Mezclar. Incubar 10 minutos a 37°C (contados desde el agregado del Reactivo B al primer tubo). Luego agregar 10 ml de Reactivo C preparado a cada tubo, manteniendo el intervalo de 1/2 minuto. Mezclar cada tubo inmediatamente por inversión y retirar del Baño. Diez minutos después, leer absorbancia con filtro verde (500-550 nm) o en espectrofotómetro a 505 nm, llevando el aparato a cero D.O. con agua destilada. El color es estable 30 minutos.

Restar a cada lectura la obtenida con el tubo N° 1, obteniéndose las Lecturas Corregidas.

En un papel milimetrado, trazar un sistema de coordenadas colocando en el eje vertical las Lecturas Corregidas y en el horizontal las actividades para GPT y GOT. Determinar en el gráfico los puntos correspondientes a cada tubo. Uniéndolos se obtienen las curvas respectivas para GOT y GPT. Tener en cuenta que para cada técnica debe utilizarse el gráfico correspondiente.

CONVERSION DE UNIDADES

Los resultados pueden ser expresados en U/l o en las antiguas unidades del método (Karmen o Wroblecky), para lo que deben utilizarse las siguientes equivalencias:

$$U/l = UKarmen/ml \text{ (o Wroblecky/ml)} \times 0,482$$

$$UKarmen/ml \text{ (o Wroblecky/ml)} = U/l \times 2,07$$

No obstante debe tenerse en cuenta que en sueros patológicos la conversión no siempre es exacta.

VALORES DE REFERENCIA

Se consideran valores normales de transaminasas (GOT y GPT) hasta 12 U/l. Si bien se han hallado individuos normales con valores hasta 18 U/l, los niveles de transaminasas que se encuentren entre 12 y 18 U/l deben considerarse sospechosos.

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

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

- La temperatura ambiente y el tiempo de incubación son críticos. Por cada grado de temperatura, la variación es aproximadamente del 7%.
- El autor del método recomienda procesar un blanco de sue-

ros (sin incubar o agregando el suero después del Reactivo B) cuando se trabaja con muestras hemolizadas, muy ictericas o cuando se sospecha la presencia de cetosis.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: procesando replicados de las mismas muestras en un mismo día, se obtuvieron los siguientes datos:

GOT:

Nivel	D.S.	C.V.
19,3 U/l	± 1,50 U/l	7,77 %
49,0 U/l	± 2,19 U/l	4,47 %
66,5 U/l	± 3,44 U/l	5,17 %

GPT:

Nivel	D.S.	C.V.
16,5 U/l	± 0,79 U/l	4,79 %
23,3 U/l	± 1,16 U/l	4,98 %
44,8 U/l	± 2,35 U/l	5,25 %

b) Límite de detección: depende del fotómetro empleado. En espectrofotómetro a 505 nm (con cubetas de caras paralelas de 1 cm de espesor, reproducibilidad ± 2 nm, luz espuria ≤ 0,5 %, semiancho de banda ≤ 8 nm) para un cambio mínimo de 0,001 D.O. el mínimo cambio de actividad detectable será de 0,5 U/l para un nivel de GOT de 88 U/l y 0,2 U/l para un nivel de GPT de 64 U/l.

c) Rango dinámico: si la actividad de la muestra es mayor de 80 U/l de GOT o GPT, debe repetirse la determinación diluyendo previamente la muestra con solución fisiológica o empleando menor cantidad de suero.

PRESENTACION

GOT: equipo para 200-400 determinaciones (Cód. 1751002).

GPT: equipo para 200-400 determinaciones (Cód. 1761002).

BIBLIOGRAFIA

- Reitman, S. & Frankel, F. - Am. J. Clin. Path. 28:56 (1957).
- Frankel, S. - Gradwohl's Clinical laboratory methods and diagnostic Vol. 1 pág. 123 - Ed. por Frankel, Reitman y Sonnenwirth - (7ª Ed., 1970).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4ª ed., 2001.

Símbolos

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



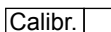
Corrosivo / Cáustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control




Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Disp. N°: 252/75-5231/98



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina