

GOT color GPT color

| | |
|--|--|
| <p>REF 1130010 2 x 100 mL</p> <p>CONTENIDO R1a. Reactivo 1 x 100 mL R2. Reactivo 1 x 100 mL R3. Reactivo 2 x 100 mL CAL 1 x 3 mL</p> | <p>REF 1132010 2 x 100 mL</p> <p>CONTENIDO R1b. Reactivo 1 x 100 mL R2. Reactivo 1 x 100 mL R3. Reactivo 2 x 100 mL CAL 1 x 3 mL</p> |
| Sólo para uso diagnóstico <i>in vitro</i> | |

GOT/GPT color

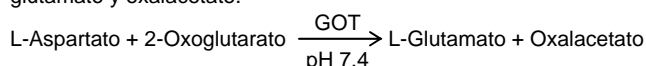
REITMAN-FRANKEL

Método colorimétrico

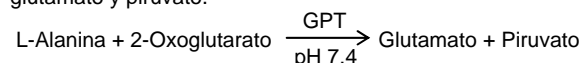
PUNTO FINAL

FUNDAMENTO

La aspartato aminotransferasa (GOT) cataliza la transferencia del grupo amino del aspartato al oxoglutarato con la formación de glutamato y oxalacetato.



La alanina aminotransferasa (GPT) cataliza la transferencia del grupo amino de la alanina al oxoglutarato con la formación de glutamato y piruvato.



La actividad de las transaminasas es proporcional a la cantidad de oxalacetato o piruvato formados en un tiempo prefijado, medidos colorimétricamente por la acción de la 2,4-dinitrofenilhidracina (DNFH) en medio alcalino¹.

COMPOSICION DE LOS REACTIVOS

R1a **Sustrato GOT.** Tampón fosfatos 100 mmol/L pH 7,4, L-aspartato 200 mmol/L, cetoglutarato 2 mmol/L.

R1b **Sustrato GPT.** Tampón fosfatos 150 mmol/L pH 7,4, L-alanina 200 mmol/L, cetoglutarato 2 mmol/L.

R2 **DNFH.** 2,4-Dinitrofenilhidracina 1 mmol/L. Reactivo de color. **C R:34/35**

R3 **NaOH 4N (10x).** Hidróxido sódico 4 mol/L. **C R:34/35**

CAL **Patrón de Acido pirúvico.** 1,8 mmol/L. Patrón secundario.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

 Conservar a 2-8°C.

Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Los sustratos, patrón, y reactivo de color están listos para su uso.

Solución de trabajo NaOH 0,4 N. Con la ayuda de un embudo verter **R3** en un matraz volumétrico de 2 litros, enjuagar con agua destilada, completar hasta el aforo y mezclar. Reposar hasta que la temperatura se equilibre y enrasar de nuevo y mezclar. Guardar la solución resultante en una botella de plástico (polietileno) a temperatura ambiente.

MUESTRAS

Suero libre de hemólisis.

Las transaminasas son estables en el suero 24 horas a temperatura ambiente o 1 semana a 2-8°C.

INTERFERENCIAS

- Muestras de pacientes sometidos a hemodiálisis, con severa deficiencia en vitamina B o con patologías relacionadas, son causa de infravaloración de los niveles de GOT y GPT.
- Altos niveles de hemólisis no son aptos para el ensayo.
- Otras drogas y sustancias pueden afectar esta medición.²

EQUIPO ADICIONAL

- Fotómetro para mediciones a 505 nm ± 15 nm.
- Baño de agua termostatable a 37°C (± 1°C).
- Reloj avisador.
- Pipetas de 5,0 mL, 1,0 mL y 0,1 mL.
- Tubos de vidrio.

TECNICA

1. Equilibrar los reactivos y muestras a temperatura ambiente.
2. Pipetear en tubos rotulados:

| TUBOS | Blanco | GOT | GPT |
|--------------|--------|--------|--------|
| Sustrato GOT | 0,5 mL | 0,5 mL | - |
| Sustrato GPT | - | - | 0,5 mL |

Preincubar a 37°C en el baño durante 5 min.

Añadir:

| | | | |
|-------|---|--------|--------|
| Suero | - | 100 µL | 100 µL |
|-------|---|--------|--------|

Mezclar. Incubar a 37°C durante: **60 min.** **30 min.**

Añadir:

| | | | |
|------|--------|--------|--------|
| DNFH | 0,5 mL | 0,5 mL | 0,5 mL |
|------|--------|--------|--------|

Mezclar. Mantener durante 20 min. a temperatura ambiente.

Añadir:

| | | | |
|------------|--------|--------|--------|
| NaOH 0,4 N | 5,0 mL | 5,0 mL | 5,0 mL |
|------------|--------|--------|--------|

Mezclar por inversion. Mantener durante 5 min. a temperatura ambiente.

3. Leer las absorbancias (A) de las muestras frente a un blanco de agua (Nota 1).

El color es estable como mínimo durante 1 hora.

CALCULOS

A partir de las absorbancias leer las unidades de GOT o GPT con la ayuda de las curvas de calibración correspondientes. Muestras con actividades superiores a 200 UW (GOT) o 100 UW (GPT) deben diluirse 1:10 con solución salina y repetir el ensayo. Multiplicar los resultados por 10 (Nota 2).

UNIDADES

La conversión de unidades colorimétricas a unidades UV actuales obtenidas por un método cinético optimizado (IFCC,1985) no puede efectuarse mediante la aplicación de un factor como sucedía anteriormente con el clásico procedimiento UV de Karmen (1995).^{3,4}

VALORES DE REFERENCIA¹

Suero

| | |
|---------|-----------|
| GOT/AST | 8-40 UW/L |
| GPT/ALT | 5-30 UW/L |

Los resultados entre 40-50 UW (GOT) o entre 30-40 UW (GPT) se consideran dudosos.

CONTROL DE CALIDAD

Para un control de calidad con este método la inclusión en cada serie de controles valorados (normales y elevados) tratados como muestras problema, ayuda a encontrar la correspondencia entre unidades.

REF 1980005 HUMAN MULTISERA NORMAL
Valorado. Nivel normal de GOT/GPT.

REF 1985005 HUMAN MULTISERA ABNORMAL
Valorado. Nivel elevado de GOT/GPT.

SIGNIFICADO CLINICO

El grupo de enzimas denominados transaminasas se hallan presentes en tejidos de muchos órganos. La actividad necrótica en estos órganos es la causante de la liberación de cantidades anormales de enzimas en la sangre.

Al ser el tejido cardíaco rico en GOT se presentan niveles séricos aumentados en pacientes tras un infarto de miocardio.

El hígado es especialmente rico en ALT. Esta enzima se usa como prueba analítica en la hepatitis. En la hepatitis infecciosa la actividad en suero de la GPT es mayor que la GOT, pero ambas actividades generalmente aumentan. Generalmente los valores de la GOT se usan para diagnosticar el infarto de miocardio mientras que los de la GPT para diagnosticar la hepatitis infecciosa. Ninguno de estos dos tests son específicos.

NOTAS

- Los ensayos se pueden leer frente a agua ajustando el fotómetro a 0. Sin embargo el uso de un blanco de reactivo y su ajuste a 0,250 A permite compensar pequeñas variaciones que puedan aparecer, inherentes a los reactivos o al instrumento.
- Diluciones del suero no dan siempre valores proporcionales a la magnitud de la dilución aplicada.
- Este patrón, cuando se utiliza tal como se describe en el procedimiento, proporciona unas curvas más lineales al método de referencia que la obtenida con el patrón original de 2 mmol/L descrito por Reitman y Frankel.

REFERENCIAS

- Reitman, S. y Frankel, S. J. Clin. Pathol, 28:56 (1957).
- Young, D.S. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 4th Edition. AACC Press (1995).
- Bergmeyer, H.U., Hørdler, M., Rej, R. Approved Recommendation (1985) on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes. Part 2. IFCC Method for Aspartate Aminotransferase, J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 24, 497-510.
- Karmen, A. J. Clin. Invest. 34 : 131 (1955).

Curva de calibración

- Pipetear (mL) en tubos rotulados:

| TUBOS | PIRUVICO PATRON | SUSTRATO GOT | H ₂ O | UW/mL | |
|-------|-----------------|--------------|------------------|-------|-----|
| | | | | GOT | GPT |
| 1 | - | 1,0 | 0,2 | 0 | 0 |
| 2 | 0,1 | 0,9 | 0,2 | 24 | 28 |
| 3 | 0,2 | 0,8 | 0,2 | 61 | 57 |
| 4 | 0,3 | 0,7 | 0,2 | 114 | 97 |
| 5 | 0,4 | 0,6 | 0,2 | 190 | - |

- Añadir a cada tubo 1,0 mL de DNFH. Mezclar. Reposar 20 minutos a temperatura ambiente.
- Añadir 10,0 mL de NaOH 0,4N. Mezclar. Reposar un mínimo de 15 minutos.
- Ajustar a 0 el instrumento con agua destilada.
- Mediante papel gráfico milimetrado, representar las *unidades de actividad* incluidas en la tabla superior frente a sus respectivas *absorbancias (A)* a 505 nm. Comprobar la curva periódicamente (Nota 3).