|  |
| --- |
| **GUÍA DE PRÁCTICA DE LABORATORIO** |
| **PERÍODO ACADÉMICO** | 2024-2S |
| **ASIGNATURA** | BIOQUIMICA CLINICA | **SEMESTRE:** | TERCERO | **PARALELO:** | A |
| **NOMBRE DEL DOCENTE** | **ROSA ELISA CRUZ TENEMPAGUAY** |
| **FECHA** | MARTES,14 ENERO 2025 |
| **NÚMERO DE PRÁCTICA** | 13 | **HORA:** | 07H00-10H00 | **DURACIÓN:** | 3h |
| **NOMBRE DE LOS** | **GRUPO 1** | **GRUPO 2** |
| **ESTUDIANTES** | **GRUPO A**1. ALENCASTRO LOZANO DIANA ELIZABETH
2. ALTAMIRANO COCA EDWIN PATRICIO
3. ANDRADE TENESACA MERILYN VIVIANA
4. AYMACAÑA RODRIGUEZ SHIRLEY MICAELA
5. CATOTA SANGO HECTOR OMAR
6. ELIZALDE ZAMBRANO BIANKA MARIELA
7. IPIALES IRUA LILIANA CAROLINA
8. MINAGUA MULLO LENIN ALEXANDER
9. TINOCO ESPINOZA ANAHELA YERALDIN
10. YUCAILLA ATUPAÑA AIDA VANESA

**GRUPO B**1. ALBAN GUEVARA ALISON FERNANDA
2. ASQUI MANYA FERNANDA ELIZABETH
3. BONIFAZ PINDUISACA LIZBETH CAROLINA
4. HUILCA BASTIDAS ESTEFANNY ABIGAIL
5. LEMA GUEVARA LILIANA MISHELLE
6. PILLAJO LATA MARIA CAROLINA
7. PULLAY DAQUILEMA LUIS FREDDY
8. QUEZADA GUAMAN NIURKA ABIGAIL
9. SAILEMA SAILEMA EVELYN ARACELY
10. TISALEMA PANIMBOZA VANESSA ABIGAIL
 | **GRUPO C**1. CHAFLA RODRIGUEZ EDGAR RAUL
2. LEMACHE BONILLA JEIMSON JOEL
3. MALAN AZOGUE ARIEL SEBASTIAN
4. MARTINEZ YAMASQUE MISHEL SAMARA
5. OLEAS OLEAS MONICA ISABEL
6. SAMUEZA FARINANGO MELANY NICOLE
7. SINCHE ARROBA SEBASTIAN ISMAEL
8. SOLIS SANCHEZ DOMENICA MONSERRATE
9. YUPA ALMENDARIZ JHEIMY LISBETH
10. ZURITA CARRILLO BRYAN SMITH

**GRUPO D**1. ALTAMIRANO IDROVO MAURICIO ALEJANDRO
2. CARRILLO ZURITA KERLY MELISA
3. CASTILLO SARANGO MARIA JOSE
4. CHAGLLA CRIOLLO JUAN ANDRES
5. CUCAS TABANGO VANESSA ESTEFANYA
6. ENCALADA PALA ARLETH YELENA
7. LLAMUCA TOMALA RONNY FERNANDO
8. MARQUINA AMON CARMEN LUCIA
9. MURILLO QUIMI MELANIE DEL ROCIO
10. TAPIA HERRERA JENNIFER ESTEFANIA
 |
| **LUGAR DE LA PRÁCTICA** | Laboratorio E201 |
| **TÍTULO DE LA UNIDAD** | Diagnóstico de laboratorio en trastornos del metabolismo de Proteínas y enzimas |
| **TEMA DE LA PRÁCTICA** | Determinación de ALT en suero sanguíneo |
| **RESULTADO DE APRENDIZAJE.** |
| Predice los trastornos del metabolismo de proteínas y enzimas, a través de la ejecución de procedimientos, métodos y técnicas bioquímicas manuales y automatizadas, para efectuar un adecuado diagnóstico de laboratorio |
| **OBJETIVO GENERAL** | Determinar la actividad enzimática de ALT/ GPT (transaminasa glutamico-piruvico en suero sanguíneo |
| **Objetivos específicos** | * Explicar el método de análisis utilizado en esta determinación.
* Calcular la actividad enzimática y ALT/ GPT en una muestra de suero humano y compararlo con los valores normales.
* Correlacionar los resultados obtenidos con la importancia biomédica.
 |

# FUNDAMENTO TEÓRICO:

**SIGNIFICADO CLINICO DE LA DETERMINACION DE ALT**

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 donde son medidas (1).

El hígado es especialmente rico en ALT, siendo la determinación de este enzima empleado principalmente como prueba analítica en la hepatitis infecciosa y tóxica, aunque pueden hallarse niveles elevados de ambas enzimas, AST y ALT, en casos de daño celular hepático y pancreatitis aguda, situación que parece indicar que la obstrucción del árbol biliar por un páncreas edematoso y la presencia de una enfermedad hepática asociada pueden contribuir a los elevados aumentos de AST en estos pacientes (1).

Aumentos entre ligeros y moderados de AST y ALT pueden observarse tras la ingesta de alcohol y tras la administración de ciertos fármacos, tales como salicilatos, opiáceos y ampicilina (1).

# MÉTODO DE ANÁLISIS: ENZIMÁTICO UV, CINETICO

**ALT/GPT: EC 2.6.1.2**

La Alanina aminotransferasa (ALAT), anteriormente conocida como Transaminasa glutámico-pirúvica (TGP), también llamada alanina transaminasa (ALT).

La ALT cataliza la transferencia del grupo amino de la alanina al cetoglutarato con la formación de glutamato y piruvato. Este último es reducido a lactato por la lactato deshidrogenasa (LDH) en presencia de nicotinamido adenin dinucleótido reducido (NADH). La reacción se controla cinéticamente a 340 nm a través de la disminución de la absorbancia resultante de la oxidación del NADH a NAD+, proporcional a la actividad ALT en la muestra (1).



# INTERFERENCIAS:

* Lipemia (intralipid >15 g/L) no interfiere.
* Bilirrubina (>30 mg/dL) no interfiere.
* Hemoglobina (>10 g/L) no interfiere.
* Otros medicamentos y sustancias pueden interferir

**MUESTRA:** Suero, plasma heparinizado u obtenido con EDTA, libre de hemólisis. La ALT y AST son estables en suero o plasma 24 horas a temperatura ambiente y hasta 1 semana a 2-8ºC.

# INTERVALO DE REFERENCIA:

En suero o plasma:

|  |  |
| --- | --- |
| ALT | Hasta 40 U/L |

Neonatos y niños doblan los valores observados en adultos acercándose a éstos aproximadamente a los seis meses de edad. El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.



|  |
| --- |
| **MATERIALES Y MÉTODOS** |
| **Equipos** | **Materiales** | **Reactivos** |
| * Espectrofotómetro con compartimiento de medición termostatado a 30/37°C para leer a 340nm.
* Centrifuga
 | * 1 Pipeta de 10-100 µL
* 1 Pipeta de 100 -1000 µL
* Puntas descartables amarillas y azules
* 1 Gradilla
* 6 Tubos de ensayo pequeños completamente limpios y secos
* 1 Temporizador
* Parafilm
* Calculadora (individual)
* Envase ámbar 10mL perfectamente limpios y secos (uno por grupo)
 | * Agua destilada
* Solución salina
* Reactivo ALT
 |
| **PROCEDIMIENTO / TÉCNICA:** |
| * Preparar el reactivo de trabajo
* Reactivo de trabajo. Colocar 1 comprimido (R1) en R2 y homogeneizar hasta la completa disolución.
* Pre incubar el reactivo de trabajo, muestras y controles a la temperatura de reacción.
* Ajustar a 0 el espectrofotómetro con agua destilada.
* Pipetear en un tubo de ensayo:

|  |  |
| --- | --- |
| Temperatura de Reacción | 37°C |
| Reactivo de trabajo Muestra o Control | 1000 µL100 µL |

* Mezclar suavemente por inversión, Insertar el tubo de ensayo en el compartimiento termostatado del instrumento y poner el cronómetro en marcha.
* Incubar durante 1 minuto, y anotar la absorbancia inicial.
* Repetir las lecturas exactamente a los 1,2 y 3 minutos.
* Calcular la diferencia entre absorbancias.
* Muestras con ΔA/min superiores a 0,400 a 340 nm deben diluirse 1:10 con solución salina y repetir el ensayo. Multiplicar los resultados por 10.
* Calcular el promedio de los resultados para obtener el cambio promedio en absorbancia por minuto (ΔA/min).

Para expresar los resultados en unidades SI: U/L x 0,01667 = μkat/L* Calculo: U/L = ΔA/min x 3333 (37ºC)

**CUESTIONARIO:**¿Qué es un perfil hepático y que pruebas de laboratorio se solicitan dentro de este perfil? |



|  |
| --- |
| **RESULTADO (Gráficos, cálculos, etc.)** |
| (Se refiere a lo ejecutado en la práctica) |
| **OBSERVACIONES** |
|  |
| **CONCLUSIONES** |
|  |
| **RECOMENDACIONES** |
|  |
| **BIBLIOGRAFÍA** |
| 1. Linear Chemicals. ALT/GPT BR. Barcelona: Linear Chemicals; c2000 [citado 10 enero 2025]. Disponible en: <http://www.linear.es/ficheros/archivos/10_1105000C.pdf>
 |
|  |  |  |
| **Mgs. Ximena Robalino** | **Mgs. Rosa Elisa Cruz.** | **Mgs. Franklin Ramos** |
| **DIRECTORA DE CARRERA** | **DOCENTE** | **RESPONSABLE DEL LABORATORIO** |