ASAT (GOT) FS* (IFCC mod.)

Con/sin piridoxal–5–fosfato

Reactivo de Diagnóstico para la determinación cuantitativa *In Vitro* de GOT/AST en suero o plasma en equipos fotométricos

Información de Pedido

Nº de pedido	Tamaño del envase						
1 2601 99 10 021	R1	5 x	20 mL	+	R2	1 x	25 mL
1 2601 99 10 026	R1	5 x	80 mL	+	R2	1 x	100 mL
1 2601 99 10 023	R1	1 x	800 mL	+	R2	1 x	200 mL
1 2601 99 10 704	R1	8 x	50 mL	+	R2	8 x	12.5 mL
1 2601 99 10 917	R1	8 x	60 mL	+	R2	8 x	15 mL
1 2601 99 10 191	R1	4 x	36 mL	+	R2	4 x	9 mL
1 2601 99 90 314	R1	10 x	20 mL	+	R2	2 x	30 mL

Para la determinacion con activacion con piridoxal-5-fosfato se requiere adicionalmente:
2 5010 99 10 030 6 x 3 mL

Resumen [1,2]

Alanino Aminotransferasa (ALAT/ALT), formalmente llamada Transaminasa Glutámico Pirúvica (GPT) y Aspartato Aminotransferasa (ASAT/AST) formalmente llamada Transaminasa Glutámico Oxalacética (GOT) son las más importantes representantes de un grupo de enzimas, las amino-transferasas o transaminasas, las cuales catalizan la conversión de alfa-ceto ácidos en aminoácidos por la transferencia de grupos amino.
Como una enzima hepática específica el ALT está sólo significativamente elevada en las enfermedades hepatobiliares. Los elevados niveles de AST, sin embargo, pueden ocurrir en conexión con daños del corazón o del músculo esquelético así como también del parénquima hepático. La medición paralela del ALT y el AST es por lo tanto aplicada para distinguir los daños hepáticos de los del corazón o del músculo esquelético.
La razón AST/ALT es utilizada para el diagnóstico diferencial en enfermedades hepáticas. Mientras que las razones < 1 indican un leve daño hepático, las razones > 1 están asociadas con enfermedades hepáticas severas, con frecuencia crónicas.

Método

Test UV perfeccionado según la IFCC (Federación Internacional de Química Clínica y Medicina de Laboratorio) [modificado]

Principio

L-aspartato + 2–Oxoglutarato <GOT> L-Glutamato + Oxalacetato

Oxalacetato + NADH + H^+ <MDH> L-Malato + NAD^+

La suma de piridoxal–5–fosfato (P-5-P) estabiliza las transaminasas y evita valores falsamente bajos en muestras que contienen insuficiente P-5-P endógeno, por ejemplo de pacientes con infarto de miocardio, enfermedad hepática y pacientes en cuidado intensivo [1].

Reactivos

Componentes y Concentraciones

R1:	TRIS	pH 7,65	110 mmol/L
	L–Aspartato		320 mmol/L
	MDH (malato dehidrogenasa)		≥ 800 U/L
	LHD (lactato dehidrogenasa)		≥ 1200 U/L
R2:	2-Oxoglutarato		65 mmol/L
	NADH		1 mmol/L
Piridoxal–5–fosfato			
	Solución tampón	pH 9,6	100 mmol/L
	Piridoxal–5–fosfato		13 mmol/L

Instrucciones de Almacenamiento y Estabilidad del Reactivo

Los reactivos son estables hasta el final del mes indicado como fecha de expiración, si son almacenados entre 2 – 8 °C, y si se protegen de la luz y evita la contaminación. ¡No congelar los reactivos!

Advertencias y Precauciones

1. Los reactivos contienen Azida de sodio (0.95 g/L) como preservante. ¡No ingerir! Evitar el contacto con la piel y membranas mucosas.
2. Tome las precauciones necesarias para el uso de reactivos de laboratorio.

Manipulación de Desechos

Por favor remítase a los requerimientos legales locales.

Preparación del Reactivo

Inicio con sustrato

Los reactivos están listos para usar.
Para la determinación con piridoxal–5–fosfato mezclar 1 parte de P–5–P con 100 partes del reactivo 1, por ejemplo 100 µL P–5–P + 10 mL R1
Estabilidad después de mezclar: 6 días de 2 a 8 °C
24 horas de 15 a 25 °C

Inicio con muestra

(sin piridoxal–5–fosfato)
Mezclar 4 partes de R1 + 1 parte de R2
(por ejemplo 20 mL R1 + 5 mL R2) = monoreactivo
Estabilidad: 4 semanas de 2 a 8 °C
5 días de 15 a 25 °C
¡El monoreactivo deben protegerse de la luz!

Materiales requeridos pero no suministrados

Piridoxal–5–fosfato en caso de determinación con activación de P–5–P, (Nº de pedido 2 5010 99 10 030)
Solución de NaCl 9 g/L
Equipo General de laboratorio

Tipo de muestra

Suero, plasma heparinizado o con EDTA
Estabilidad [4]:
4 días de 20 a 25 °C
7 días de 4 a 8 °C
3 meses de -20 °C
¡Desechar las muestras contaminadas!

Procedimento del Ensayo

Hay disponibles a petición aplicaciones para sistemas automáticos.

Longitud de onda	340 nm, Hg 365 nm, Hg 334 nm
Paso Óptico	1 cm
Temperatura	37 °C
Medición	Contra el aire

Inicio con sustrato

Muestra/Calibrador	100 µL
Reactivo 1	1000 µL

Mezclar, incubar durante 5 min., luego añadir:

Reactivo 2	250 µL

Mezclar, leer la absorbancia después de 1 min. y empezar a cronometrar. Leer la absorbancia nuevamente después de 1, 2 y 3 min.

*Fluid Stable = líquido estable

Inicio con muestra
No usar P-5-P con Inicio con muestra!

Muestra/Calibrador	100 µL
Monoreactivo	1000 µL

Mezclar, leer la absorbancia después de 1 min. y empezar a cronometrar. Leer la absorbancia nuevamente después de 1, 2 y 3 min.

Cálculo

Con factor

De las lecturas de la absorbancia calcular ΔA/min y multiplicar por el factor correspondiente de la tabla de más abajo:

ΔA/min. x factor = actividad AST [U/L]

Inicio con sustrato	37 °C
340 nm	2143
334 nm	2184
365 nm	3971
Inicio con muestra	37 °C
340 nm	1745
334 nm	1780
365 nm	3235

Con calibrador

$$\text{ASAT } [U/L] = \frac{\Delta A/\text{min Muestra}}{\Delta A/\text{min Calibrador}} \times \text{ Conc. Calibrador } [U/L]$$

Calibradores y Controles

Para la calibración de sistemas fotométricos automatizados se recomienda el uso del calibrador DiaSys TruCal U. Para el control interno de calidad los controles DiaSys TruLab N y P deberán probarse con cada lote de muestras.

	Cat. No.	Presentación
TruCal U	5 9100 99 10 063	20 x 3 mL
	5 9100 99 10 064	6 x 3 mL
TruLab N	5 9000 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9000 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9050 99 10 061	6 x 5 mL

Características de Desempeño

Rango de Medida

La prueba se ha desarrollado para determinar las actividades de GOT/AST que corresponden a un máximo de ΔA/min de 0.16 a 340 y 334 nm ó 0.08 a 365 nm.
Si tal valor es excedido la muestra debe diluirse 1 + 9 con solución de NaCl (9 g/L) y los resultados multiplicados por 10.

Especificidad/Interferencias

No se observó ninguna interferencia con el ácido ascórbico hasta 30 mg/dL, bilirrubina hasta 40 mg/dL, lipemia hasta 2000 mg/dL de triglicéridos. La presencia de hemoglobina en suero indica destrucción de eritrocitos con liberación de AST, produciendo así una elevada interferencia.

Sensibilidad/Límite de Detección

El límite más bajo de detección es 2 U/L.

Precisión *Sin P-5-P*

en la serie n = 20	valor medio [U/L]	DE [U/L]	CV [%]
Muestra 1	25,1	0,82	3,25
Muestra 2	51,3	1,57	3,06
Muestra 3	116	0,90	0,77

de un día a otro n = 20	valor medio [U/L]	DE [U/L]	CV [%]
Muestra 1	25,7	1,13	4,40
Muestra 2	48,6	0,67	1,38
Muestra 3	115	0.80	0,69

Con P-5-P

en la serie n = 20	valor medio [U/L]	DE [U/L]	CV [%]
Muestra 1	43,6	1,10	2,51
Muestra 2	74,5	1,79	2,41
Muestra 3	174	3,18	1,83

de un día a otro n = 20	valor medio [U/L]	DE [U/L]	CV [%]
Muestra 1	44,0	1,59	3,61
Muestra 2	77,0	3,05	3,97
Muestra 3	187	3,37	1,80

Método de Comparación

Con P-5-P

Una comparación entre ASAT (GOT) FS de DiaSys con P-5-P (y) con el reactivo de referencia de la IFCC (x) utilizando 51 muestras dio los sigiuentes resultados:
y = 1,000 x –0,200 U/L; r = 1,000.

Una comparación entre ASAT (GOT) FS de DiaSys con P-5-P (y) y un test comercialmente disponible (x) utilizando 51 muestras dio los sigiuentes resultados:
y = 0,970 x + 0,350 U/L; r = 0,999.

Sin P-5-P

Una comparación entre ASAT (GOT) FS de DiaSys sin P-5-P (y) y un test comercialmente disponible (x) utilizando 51 muestras dio los sigiuentes resultados:
y = 0,997 x + 0,621 U/L; r = 1,000.

Rango de Referencia

Con activación de piridoxal–5–fosfato

Mujeres [3]		< 31 U/L
Hombres [3]		< 35 U/L
Niños [1]	1 – 3 años	< 50 U/L
	4 – 6 años	< 45 U/L
	7 – 9 años	< 40 U/L
	10 – 12 años	< 40 U/L
	13 – 15 años	< 35 U/L
	16 – 18 años	< 35 U/L

Sin activación de piridoxal–5–fosfato

Mujeres	< 31 U/L
Hombres	< 35 U/L

Cada laboratorio debería comprobar la transmisibilidad de los valores de referencia de sus propios grupos de pacientes y, dado el caso, determinar sus propios valores de referencia.

Bibliografía

1. Thomas L. Alanine aminotransferase (ALT), Aspartate aminotransferase (AST). In: Thomas L, editor. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 55-65.
2. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 617-721.
3. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Férard G et al. IFCC primary reference procedure for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 5: Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of aspartate aminotransferase. Clin Chem Lab Med 2002;40:725-33.
4. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 18-9.

Fabricante

DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Alemania