



valtek

diagnostics

ASAT/AST/GOT (IFCC) II

Reactivo líquido para la determinación fotométrica de la enzima Transaminasa Glutámico Oxalacética (Aspartato Aminotransferasa) en suero.

Para uso en el diagnóstico *in Vitro*. Apto para usar en autoanalizador.

SIGNIFICANCIA CLÍNICA

La ASAT se encuentra presente en todos los tejidos, pero en altas concentraciones en el hígado, músculo, riñón y corazón. Su aumento se asocia a enfermedades que afectan dichos tejidos tales como hepatitis, infarto del miocardio, entre otras.

FUNDAMENTOS DEL MÉTODO

La determinación de ASAT se realiza acoplando su acción transaminasa a la acción de la enzima MDH en presencia de NADH. Este método se basa en el método de Henry et al., siguiendo las recomendaciones de IFCC



El L-Aspartato reacciona con el α -Cetoglutarato en presencia de ASAT formándose Oxaloacetato y Glutamato. El Oxaloacetato producido es reducido por la enzima MDH con la consiguiente oxidación del NADH a NAD.

La actividad de la ASAT se mide determinando la disminución de absorbancia a 340 nm. según el NADH sea oxidado a NAD.

REACTIVOS

Conservados entre 2° y 8°C. y protegidos de la luz, estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Composición Reactivo trabajo:

Buffer pH 7.8 ± 0.1	c.s.
α -Cetoglutarato	12 mM
L-Aspártico	> 200 mM
LDH (microbial)	> 1000 U/L
MDH (microbial)	> 800 U/L
Azida	0.25%
NADH	> 0.18 mM
Estabilizadores	c.s.

Preparación del Reactivo de Trabajo:

Mezclar 250 ul de Reactivo 1 con 50 ul de Reactivo 2 o preparar el volumen requerido manteniendo la proporción (5:1).

Estabilidad del reactivo de trabajo: 48 hrs a temperatura ambiente (15 a 30°C) y 14 días refrigerado (2-8°C)

Descartar el reactivo si su absorbancia es menor de 0.8 OD a 340 nm. contra blanco de agua.

MUESTRA

De preferencia utilizar suero libre de hemólisis. Descartar muestras con hemólisis visible ya que se pueden obtener valores falsamente elevados. La ASAT es estable 4 días a temperatura ambiente (15-30°C), 10 días refrigerada entre 2° y 8°C. y 14 días congelada a -20°C.

MATERIAL NECESARIO NO INCLUIDO

Espectrofotómetro manual o automático o fotocolorímetro de filtros con cubeta termoestable, capaz de medir absorbancia a 340 nm., baño termoregulado, cronómetro, pipetas, calibrador y sueros controles.

TÉCNICA

Llevar el reactivo a la temperatura de reacción (30°C o 37°C.). Ajustar el espectrofotómetro a cero con blanco de agua destilada.

Reactivo de trabajo	(mL)	1.0
Muestra o calibrador	(mL)	0.1
Mezclar y transferir a la cubeta del espectrofotómetro. Incubar 60 segundos a la temperatura de reacción. Leer la absorbancia inicial (A1) a 340 nm. Repetir la lectura a intervalos de 60 segundos exactos, por tres minutos.		

Adaptaciones para la aplicación de este reactivo en autoanalizadores están disponibles a solicitud. Es responsabilidad del laboratorio validar esta aplicación. Los reactivos deben permanecer cerrados cuando no están en uso.

CALIBRACIÓN

En la calibración se recomienda utilizar calibrador sérico VALTROL-C II (código 210-130A), proceder de igual forma que con las muestras.

Se recomienda recalibrar en cualquier momento que se evidencie alguno de estos acontecimientos:

- El lote de reactivo cambia
- Se realiza un mantenimiento preventivo del equipo
- Los valores de control han cambiado o se encuentran fuera de escala.

CÁLCULOS

Determine el cambio de Absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{min}$) tanto para el calibrador como para las muestras.

Factor = $\frac{\text{Concentración Calibrador}}{\Delta A/\text{min Calibrador}}$
Actividad ASAT (U/L) = Factor x $\Delta A/\text{min}$. muestra

O bien se puede utilizar el siguiente factor:

Actividad ASAT desconocido (U/L) = $\Delta A/\text{min} \times 1768$
--

$$\text{Factor } 1768 = \frac{V_t \times 1000}{\sum \text{NADH } 340 \times P \times V_m}$$

Vt = Volumen total de reacción

$\sum \text{NADH } 340$ = Coef. de extinción milimolar del NADH a 340 nm.

P = Espesor del paso de luz en la cubeta

Vm = Volumen de muestra utilizado

CONTROL DE CALIDAD

- Es conveniente analizar junto con las muestras sueros controles valorados para ASAT por este método. Se recomienda la utilización de los sueros controles VALTROL-N (código 210-100) y VALTROL-P (código 210-110) o MULTIVALTROL (código 210-300).
- El factor podría variar en autoanalizadores por diferencia en el espesor de paso de luz. En este caso es indispensable utilizar un calibrador sérico compatible con esta metodología de análisis.
- Si los valores obtenidos para los controles se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.
- Cada laboratorio debe disponer de su propio Control de Calidad y establecer las correcciones necesarias en caso de que no se cumpla con las tolerancias permitidas para los controles.
- Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

ADVERTENCIAS Y MEDIDAS DE PRECAUCIÓN:

- Mantener los reactivos cerrados cuando no están en uso aumenta la estabilidad de la calibración.
- Los volúmenes indicados pueden ser alterados proporcionalmente sin alterar los resultados.
- Los rangos normales deben informarse de acuerdo a la temperatura a la cual se realiza el ensayo.
- Consultar en nuestra página WEB la ficha de seguridad de este reactivo y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación y eliminación de residuos.
- Debe utilizarse contenedores de reactivos de autoanalizadores nuevos.
- Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.
- El Hipoclorito de Sodio a una concentración ≥ 10 mg/dL tiene un fuerte efecto interferente sobre la estabilidad del reactivo, por lo que todo el material utilizado debe estar LIBRE de residuos de Hipoclorito para garantizar el resultado obtenido.

ESPECIFICACIONES DE DESEMPEÑO:

- Linealidad: 3 - 500 U/L.

Para valores superiores 500 U/L, diluir la muestra con suero fisiológico y el resultado obtenido se multiplica por el factor de dilución.

- Interferencias: Hemoglobina sobre 300 mg/dl y bilirrubina sobre 18 mg/dL. Otros medicamentos y sustancias podrían interferir (4).

- Precisión:

<i>Repetibilidad intraserie (N=20)</i>			<i>Reproducibilidad interserie (N=20)</i>		
Media (U/L)	SD (U/L)	CV %	Media (U/L)	SD (U/L)	CV %
43	1,2	2,7	44	1,3	4,9
186	1,7	1,4	183	4,0	2,5

- Comparación de métodos: Estudios entre el método actual y un método similar arrojó un coeficiente de correlación de 0,999 y una regresión ecuación de $y=0.98x + 1.6$. (n=125, rango= 15 - 659 U/L)

- Sensibilidad: La sensibilidad de este reactivo se investigó mediante la lectura del cambio en la absorbancia a 340 nm para una muestra salina y sueros con concentraciones conocidas. Se realizaron diez réplicas.

Los resultados de esta investigación indicaron que, en el analizador utilizado, el reactivo AST (GOT) mostró poca o ninguna deriva del reactivo en una muestra cero.

En las condiciones de reacción descritas, la actividad de AST de **1 U/L da una Δ Abs/min. de 0,0004.**

RANGOS DE REFERENCIA

Cada laboratorio debe establecer sus propios rangos de referencia en función de la población de pacientes. Los rangos de referencia que se enumeran a continuación están tomados de la bibliografía existente.

Suero: hasta 22 U/L a 30°C.

Suero: hasta 34 U/L a 37°C.

PRESENTACIONES DISPONIBLES

CÓDIGO	CONTENIDO
300260	Reactivo 1 4 x 40 mL
	Reactivo 2 2 x 16 mL
200260	Reactivo 1 4 x 40 mL
	Reactivo 2 2 x 16 mL

BIBLIOGRAFÍA

1. Tietz, N.W. (ed) Fundamentals of Clinical Chemistry W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1976.
2. Henry, R.J., Clinical Chemistry, Principles and Technics. Harper and Row Publishers. New York, 1964.
3. Provisional Recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Clin Chem 23(887),1977.
4. Young D.S., effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press,1995.

REV Nº 2

07-2024