



GOT(AST) UNIIII

AA

Método UV optimizado (IFCC) para la determinación de aspartato aminotransferasa (GOT/AST) en suero o plasma

SIGNIFICACION CLINICA

La aspartato aminotransferasa es una enzima bilocular (citoplasmática y mitocondrial) ampliamente difundida. Se encuentra en mayor concentración en hígado y corazón. Cualquier alteración de estos tejidos produce un aumento en los niveles de AST circulante.

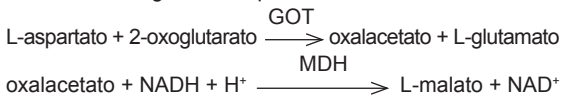
En el infarto agudo de miocardio, se observa un aumento moderado de la enzima a las 6 u 8 horas de ocurrido el episodio, alcanza niveles máximos alrededor de las 48 horas y retorna a la normalidad entre el 4º y el 6º día.

En pacientes con afecciones hepáticas se observan las mayores elevaciones de AST, sobre todo en los casos de hepatitis con necrosis.

La determinación de AST adquiere importancia diagnóstica cuando sus valores se comparan con los de otras enzimas de similar origen tisular, es decir que permite completar el perfil enzimático de órganos tales como corazón e hígado.

FUNDAMENTOS DEL METODO

Basado en el siguiente esquema reaccionante:



REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: viales conteniendo 2-oxoglutarato, nicotinamida adenina dinucleótido reducido (NADH), malato deshidrogenasa (MDH) y lactato deshidrogenasa (LDH).

B. Reactivo B: solución de buffer TRIS pH 7,8 (a 30°C) con L-aspartato.

Concentraciones finales (según IFCC y SSCC)

TRIS	80 mmol/l; pH 7,8 (a 30°C)
L-aspartato	240 mmol/l
NADH	0,18 mmol/l
MDH	≥ 420 U/l
LDH	≥ 600 U/l
2-oxoglutarato.....	12 mmol/l

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivo B: listo para usar.

Reactivo A; preparación: agregar 20 ml de Reactivo B a un frasco de Reactivo A. Tapar, agitar hasta disolución completa y fechar.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".
El Reactivo B contiene azida.

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: son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Reactivo A reconstituido: estable 30 días en refrigerador (2-10°C) o 3 días a temperatura ambiente a partir del momento de su reconstitución.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Cuando el espectrofotómetro ha sido llevado a cero con agua destilada, lecturas de absorbancia del Reactivo A reconstituido inferiores a 0,800 D.O. o superiores a 1,800 D.O. (a 340 nm) son indicio de deterioro del mismo.

MUESTRA

Suero o plasma

a) Recolección: se debe obtener de la manera usual.

b) Aditivos: en caso de que la muestra a utilizar sea plasma, se debe usar heparina como anticoagulante.

c) Sustancias interferentes conocidas:

- Las muestras provenientes de pacientes hemodializados o con hipovitaminosis o patologías asociadas con deficiencia de piridoxal fosfato producen valores falsamente disminuidos.

- No se observan interferencias por bilirrubina hasta 60 mg/l, triglicéridos hasta 5,5 g/l y hemoglobina hasta 0,14 g/dl.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la GOT en suero es estable hasta 3 días en refrigerador, sin agregado de conservantes. No congelar.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Baño de agua a la temperatura indicada en el procedimiento.
- Cronómetro.

CONDICIONES DE REACCION

(Disminución de absorbancia)

- Longitud de onda: 340 nm (Hg 334 ó 366).

- Temperatura de reacción: 25, 30 ó 37°C. Ver los VALORES DE REFERENCIA correspondientes a cada temperatura.
 - Tiempo de reacción: 4 minutos.
- Los volúmenes de Muestra y de Reactivo A reconstituido se pueden reducir proporcionalmente, sin que varíen los factores de cálculo correspondientes.

PROCEDIMIENTO

A) 30 ó 37°C

I- MACROTECNICA

En una cubeta mantenida a 30-37°C, colocar:

Reactivo A reconstituido	2 ml
---------------------------------	------

Muestra	200 ul
----------------	--------

Mezclar inmediatamente y disparar simultáneamente el cronómetro. Luego de 1 minuto registrar la absorbancia inicial (ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO) y luego a los 1, 2 y 3 minutos de la primera lectura. Determinar la diferencia promedio de absorbancia/min ($\Delta A/\text{min}$), restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.

II- MICROTECNICA

En una cubeta mantenida a 30-37°C, colocar:

Reactivo A reconstituido	1 ml
---------------------------------	------

Muestra	100 ul
----------------	--------

Mezclar inmediatamente. Continuar de modo similar al descrito en el procedimiento (A-I).

B) 25°C

MACROTECNICA

Emplear 500 ul de Muestra. Luego de agregar la muestra mezclar inmediatamente y disparar simultáneamente el cronómetro. Luego de 3 minutos registrar la absorbancia inicial (ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO). Continuar de modo similar al descrito en A-I.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

$GOT (U/l) = \Delta A/\text{min} \times \text{factor}$

En cada caso deberá emplearse el factor de cálculo correspondiente de acuerdo a la temperatura de reacción seleccionada (30-37°C o 25°C), como se indica en la siguiente tabla:

Temperat.	30-37°C	25°C
Long. onda		
340 nm	1.740	791
334 nm	1.780	809
366 nm	3.207	1.453

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con actividades conocidas de GOT, con cada determinación.

VALORES DE REFERENCIA

Temperatura	25°C	30°C*	37°C*
Hombres	hasta 18 U/l	hasta 25 U/l	hasta 38 U/l
Mujeres	hasta 15 U/l	hasta 21 U/l	hasta 32 U/l

* Calculados

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

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

$GOT (U/l) \times 0,017 = GOT (ukat/l)$

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

- Absorbancia inicial baja: cuando una vez agregado el suero la primera lectura (tiempo 0) es inferior a 0,800 D.O., estando el Reactivo A (sustrato) en condiciones, indica una muestra con muy alta actividad de GOT (que consume el NADH aún antes de esta lectura) o con una concentración de cetóácidos endógenos particularmente elevada. En este caso, repetir la determinación con muestra diluida con solución fisiológica y multiplicar el resultado por la dilución efectuada.
- La humectación es causa de deterioro del Reactivo A.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: procesando de acuerdo al documento EP5A del NCCLS (National Committee on Clinical Laboratory Standards), se obtuvo lo siguiente:

Precisión intraensayo (n = 20)

Nivel	D.S.	C.V.
37 U/l	± 1,6 U/l	4,4 %
180 U/l	± 2,4 U/l	1,3 %

Precisión total (n = 20)

Nivel	D.S.	C.V.
37 U/l	± 1,8 U/l	4,9 %
180 U/l	± 2,8 U/l	1,6 %

b) Sensibilidad: depende del fotómetro empleado y de la longitud de onda. En espectrofotómetros con cubetas de caras paralelas de 1 cm de espesor, para un $\Delta A/\text{min}$ de 0,001 el mínimo cambio de actividad detectable será de 1,8 U/l (a 340 nm y 30 ó 37°C).

c) Rango dinámico: el rango útil de lectura se extiende hasta 0,200 $\Delta A/\text{min}$ (a 340 nm). Si la $\Delta A/\text{min}$ es superior a 0,200 (a 340-334 nm) o 0,100 (a 366 nm) se debe repetir la determinación con muestra diluida (1:5 ó 1:10) con solución fisiológica, corrigiendo consecuentemente los resultados.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso.

PRESENTACION

- 10 x 20 ml (200 ml Reactivo B) (Cód. 1751302).

BIBLIOGRAFIA

- IFCC - Clin. Chim. Acta 70/2:F19 (1976).
- SSCC - Scand. J. Clin. Lab. Invest. 33:291 (1974).
- DGKC - Z. Klin. Chem. 10:281 (1972).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- "Tietz textbook of Clinical Chemistry" - Burtis and Ashwood Editors, 3rd Ed. - Saunders Co., 1999.
- Wallnöfer, H.; Schmidt, E.; Schmidt, FW - Synopsis der leberkrankheiten. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1974.
- Thefeld, W. et al. - Dtsch. Med. Wschr. 99:343 (1974).
- Dufour D.R.; Lott J.A.; Nolte F.S.; Gretch D.R.; Koff R.S. and Seeff L.B. - Clin. Chem. 46/12:2027 (2000).
- NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", EP5-A (1999).

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°: 6911/97 - 954/02 - 3480/13



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina