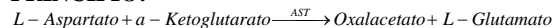


REACTIVO PARA AST (SGOT)**USO:**

Para la determinación cuantitativa de Aspartato Aminotransferasa en suero.

HISTORIA DEL METODO:

En 1955 Karmen desarrollo un procedimiento cinético que se basa en el uso de Malato Dehidrogenasa y NADH. Algunos procesos optimizados fueron presentados por Henry en 1960, y Amador y Wacker en 1962. Estas modificaciones aumentaron la precisión y bajaron el efecto en sustancias de interferencia. El Comité de Enzimas de la Sociedad Escandinava para la química y la fisiología clínica publicó un método de modificaciones optimizadas en 1974. En 1976 el panel de expertos en Enzimas de la Federación de Química Clínica (IFCC) propuso la adición de Piridoxal-5-Fosfato a la mezcla para asegurar máxima actividad. La IFCC publicó un método que incluía P-5P en 1978. El presente método se basa en recomendaciones de la IFCC pero no contiene P-5P ya que el significado diagnóstico del incremento de AST (SGOT) está aún en estudios.

PRINCIPIO:

Aspartato Amino transferasa (AST) cataliza la transferencia del Grupo Amino del L-Aspartato al A-Ketoglutarato para obtener Oxalacetato y L-Glutamato. El Oxalacetato se reduce con la oxidación simultánea de NADH a NAD en la reacción catalizada por la Malato Deshidrogenasa (MDH).

La disminución de la absorción a 340 nm. es directamente proporcional a la actividad de la AST. Se agrega lactato Deshidrogenasa para prevenir la interferencia de Piruvato Endógeno que normalmente está en el suero.

REACTIVOS:

(La concentración se refiere al reactivo reconstituido) a-Ketoglutarato 12mM, L-Acido Aspártico 200mM, NADH 0.2mM, LDH 800 U/L, MDH 600 U/L, Buffer Tris pH 7.8 +0.1, estabilizadores.

PRECAUCIONES:

Para diagnóstico "In Vitro" solamente

PREPARACIÓN:

Reconstituya con el volumen de agua destilada indicada en la etiqueta.

ALMACENAMIENTO DEL REACTIVO:

- 1) Almacenar el reactivo a 2-8°C.
- 2) El reactivo reconstituido es estable por 48 hrs. a temperatura ambiente y 30 días cuando es refrigerado inmediatamente.

DETERIORO DEL REACTIVO

- 1) La absorción inicial leída contra agua a 340nm es abajo de 0.800.
- 2) El reactivo no lee los parámetros de desempeño.

RECOLECCIÓN Y MANEJO DE LA MUESTRA

- 1) Se recomienda suero no hemolizado, las células rojas contienen AST.
- 2) El AST en suero es reportado estable 10 días, si se refrigera, dos semanas congelado, y 4 días a temperatura ambiente.

INTERFERENCIAS

Un mínimo de droga y sustancias interfieren con la actividad de AST, ver Young.

MATERIALES PROVISTOS

Reactivo AST (SGOT)

MATERIALES REQUERIDOS Y NO PROVISTOS

- 1) Instrumentos de pipeteo.
- 2) Tubos de ensayo y/o gradilla.
- 3) Reloj.
- 4) Espectrofotómetro capaz de leer a 340nm (UV).
- 5) Block térmico o baño Maria a 37°C.

PROCEDIMIENTO MANUAL

- 1) Reconstituya el reactivo de acuerdo a las instrucciones.
- 2) Pipetee 1.0 ml de reactivo en los tubos apropiados y preincube a 37°C por cinco minutos.
- 3) Ponga en cero el espectrofotómetro con agua a 340 nm.
- 4) Agregue 0.100 ml. (100 ul) de muestra, mezcle e incube por 1 minuto.
- 5) Después de un minuto lea la absorción, regrese el tubo a 37°C. Repita las lecturas cada minuto en los próximos dos minutos.
- 6) Calcule la diferencia de absorción por minuto ($\Delta\text{ABS}/\text{min}$).
- 7) La $\Delta\text{ABS}/\text{MIN}$. multiplicado por el factor 1768 (ver cálculos) da resultados en IU/L.
- 8) Las muestras con valores sobre 500 IU/L deben diluirse 1:1 con solución salina, corra de nuevo y multiplique x 2.

NOTAS DEL PROCEDIMIENTO

- 1) Si el espectro que está utilizando está equipado con cubeta de temperatura controlada, deje la mezcla en la cubeta mientras forma las lecturas.
- 2) Las muestras turbias o ictericas pueden dar lecturas en las que la absorción inicial exceda la capacidad del espectrofotómetro, se pueden obtener resultados precisos usando 0.05 ml. (50 UL) de muestra y multiplicando el resultado por dos.

CALIBRACIÓN:

Este procedimiento se estandariza por la absorción milimolar del NADH tomada como 6.22 a 340 nm, bajo condiciones descritas.

CONTROL DE CALIDAD:

Monitoree la validez de las reacciones con suero control normal y anormal.

CALCULOS:

Una unidad internacional (IU/L) es la cantidad de enzima que cataliza la transformación de un micromol de sustrato por minuto en condiciones específicas.

$$AST \text{ IU / L} = \frac{\Delta Abs / \text{min} \times 1.10 \times 1000}{6.22 \times 0.10 \times 1} = \Delta Abs / \text{min} \times 1768$$

DONDE:

Δ Abs/min = Diferencia de absorbancia por minuto.
 1.10 = Volumen total de la reacción (ml).
 1000 = Conversión de IU/ml. a IU/L.
 6.22 = Absorción milimolar de NADH.
 0.10 = Volumen de la muestra en ml.
 1 = Trayectoria de la luz en cm.

NOTA:

Si alguno de los parámetros se altera se debe calcular un nuevo factor según la fórmula.

RANGO ESPERADO:

Arriba de 28 IU/L = (30°C)
 Arriba de 40 IU/L = (37°C)

DESEMPEÑO:

- 1) Linealidad 500 IU/L.
- 2) Comparación: Un estudio entre este método y otro similar nos dio coeficiente 0.999 y una ecuación $y = 1.00x + 1.6$.
- 3) Precisión:

Entre pruebas

Conc.	D.F.	C.V.%
31	2.2	7.1
160	4.0	2.5

Prueba a prueba

Conc.	D.F.	C.V.%
31	2.5	8.1
160	4.0	2.5

REFERENCIAS:

1. Karmen, A, et al, J.Clin, Invest 34:126 (1955).
2. Henry, R.J., et al, Am. J. Clin. Path, 34:38 (1960).
3. Amador, E., Wacker, W., Clin, Chem, 8:343 (1962).
4. The Comitee of Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Chemical Physiology, Scand, J.Clin, Lab. Invest. 32:291 (1974).
5. Expert Panel on Enzymes of the International Federation of Clinical Chemistry, Clin, Chem. Acta 70:119 (1976).

6. Expert Panel on Enzymes of the International Federation of Clinical Chemistry, Clin, Chem. 24:720 (1978).
7. Jung K, Bohm, M. Enzyme 23:201 (1978).
8. Hafkenschied, J.C.M. Dijit, C.C.M. Clin, Chem., 1:55 (1979).
9. x Horde-r,M,Bowers, G.N.,Jr,Clin, Chem. 23:551 (1997).
10. Henry, R,J,Clinical Chemistry:Principes and Technics 2nd, edition, Hagerstown, (MD) Harper Row p882(1974).
11. Young, D.S., et al, Clin, Chem. 21:1D (1975).
12. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B., Saunders p682 (1976).

Rev. 8/89.

DISTRIBUIDO POR:



DISTRIBUOTOR:
MYM Laboratory & Medical Supply, Inc.
 8684 Ave. de la Fuente Ste. 14
 San Diego CA. 92154
 Tel. (619) 710-0126 Fax. (619) 710-0297
 www.mymsupply.com
 email: mail@mymsupply.com