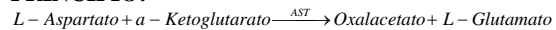


**REACTIVO PARA AST (SGOT)****USO:**

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:**

$\Delta$  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. 32291 (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.mymssupply.com  
 email: mail@mymssupply.com