

Reactivo AST (GOT)

Líquido de dos partes

RESUMEN DEL PRODUCTO

Estabilidad	:	Hasta fecha caducidad a 2-8°C
Intervalo Lineal	:	Hasta 1500 U/L (25,1 µkat/L)
Tipo de muestra	:	Suero
Método	:	Cinético UV
Preparación del reactivo	:	Suministrado listo para su uso.

IVD

USO PREVISTO

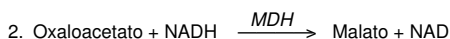
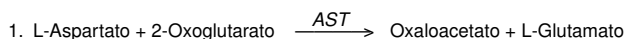
Este reactivo está pensado para la determinación cuantitativa in vitro de la AST (aspartato aminotransferasa EC2.6.1.1) en el suero humano.

RELEVANCIA CLÍNICA

La AST está ampliamente distribuida en elevadas concentraciones en el corazón, en el hígado, en los músculos esqueléticos, en el riñón y en los eritrocitos. El daño o la enfermedad de cualquiera de estos tejidos tales como el infarto de miocardio, la hepatitis viral, la necrosis hepática, la cirrosis y la distrofia muscular puede tener como resultado el aumento de los niveles séricos de la AST.¹

METODOLOGÍA

En 1955, Karmen et al² describieron el primer ensayo cinético de la AST con propósitos clínicos. Este método se evaluó y se mejoró por parte de muchos investigadores, principalmente Henry et al³, y ahora constituye la base de muchos procedimientos nacionales e internacionales recomendados. Las series de reacciones implicadas en el sistema de ensayo son las siguientes:



- La AST presente en la muestra cataliza la transferencia del grupo amino desde L-aspartato hasta 2-oxoglutarato formando oxaloacetato y L-glutamato.
- El oxaloacetato en presencia de NADH y malato deshidrogenasa (MDH) se reduce a L-malato. En esta reacción el NADH se oxida a NAD. La reacción se sigue midiendo la velocidad de disminución de la absorbancia a 340 nm debida a la oxidación de NADH a NAD.
- La adición de la lactato deshidrogenasa (LDH) al reactivo es necesaria para conseguir una rápida y completa reducción del piruvato endógeno, de forma que no interfiera con el sistema de ensayo.

COMPOSICIÓN DEL REACTIVO

Ingredientes activos

Reactivo 1:

	Concentración
NADH	0,42 mmol/L
LDH (microbiana)	> 1500 U/L
2-Oxoglutarato	15 mmol/L
Tampón Tris	47,5 mmol/L

Reactivo 2:

L-Aspartato	1000 mmol/L
MDH (microbiana)	> 500 U/L
Tampón Tris	250,5 mmol/L

pH 8,1 ± 0,1 a 20°C.

AVISO: No ingerir. Evite el contacto con la piel y con los ojos. En caso de contacto, lave abundantemente las áreas afectadas con agua. El reactivo contiene Azida de Sodio que puede reaccionar con las tuberías de cobre o de plomo. Añada una gran cantidad de agua antes de verterlo. Para información adicional consulte la Hoja de Datos de Seguridad del reactivo líquido de AST(GOT) de dos partes.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Los reactivos se suministran listos para su uso.

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

Antes del uso:

Cuando se almacenan entre 2 y 8°C, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en las etiquetas del frasco y de la caja del kit.

SÍMBOLOS EN EL ETIQUETADO DEL PRODUCTO

EC REP	Representante autorizado		Limitación de temperatura
IVD	Para uso en diagnósticos in vitro		Usar hasta/Fecha de caducidad
LOT	Código de lote/Número de lote		PRECAUCIÓN. Consulte las instrucciones de uso.
REF	Número de catálogo		Fabricado por
	Consulte las instrucciones de uso		
REAG 1	Reactivo 1 (R1)	REAG 2	Reactivo 2 (R2)

Una vez que se ha abierto el reactivo:

Cuando se almacenan cerrados entre 2 y 8°C, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en las etiquetas del frasco y de la caja del kit.

Indicaciones del deterioro del reactivo:

- Turbidez,
- Absorbancia del reactivo 1 <2,0 AU a 340 nm (paso de luz de 1 cm); y/o
- Imposibilidad de recuperar los valores de control dentro del intervalo asignado.

TOMA Y MANEJO DE LAS MUESTRAS

Suero: Use suero no hemolizado.

Almacenamiento: Las muestras de AST se deben almacenar durante al menos 7 días a 4°C.⁴

EQUIPOS ADICIONALES NECESARIOS PERO NO PROPORCIONADOS

- Un analizador químico clínico capaz de mantener una temperatura constante (37°C) y de medir la absorbancia a 340 nm.
- Consumibles específicos del analizador, por ejemplo: copas para muestras.
- Material de control de ensayos normales y anormales.

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Se recomiendan los siguientes parámetros del sistema. El Grupo de Soporte Técnico suministra aplicaciones para los instrumentos individuales tras solicitud.

PARÁMETROS DEL SISTEMA

Temperatura	37°C
Longitud de onda primaria	340 nm (334-365 nm)
Longitud de onda secundaria	380 nm
Tipo de ensayo	Velocidad/cinética
Dirección	Disminución
Muestra: Relación de reactivo	1 : 16 (R1) : 4 (R2)
p.ej. Vol de muestra	15 µL
Vol de reactivo 1	240 µL
Vol de reactivo 2	60 µL
Tiempo de retardo (muestra + R1)	≤5 minutos
Tiempo de retraso (muestra + R1 + R2)	>30 segundos
Tiempo de lectura	1 - 2 minutos
Límites del blanco de reactivo (R1 + R2)	Bajo 1,6 AU
(340 nm, paso de luz de 1 cm)	Alto 2,5 AU
Linealidad	Hasta 1500 U/L
(consulte la sección de Linealidad)	(25,1 µkat/L)
Sensibilidad Analítica	0,30 ΔmA/min por U/L
(340 nm, paso de luz de 1 cm)	(18,0 ΔmA/min por µkat/L)

CÁLCULOS

En general, el instrumento calcula los resultados de forma automática, como sigue:

Actividad en U/L = ΔAbs/min x Factor

$$\text{Factor} = \frac{\text{TV} \times 1000}{6,3 \times \text{SV} \times \text{P}}$$

En la cual:

TV = Volumen total de reacción en mL

SV = Volumen de la muestra en mL

6,3 = coeficiente de absorción milimolar del NADH a 340 nm (Véase la nota 4)

P = Longitud del paso de la cubeta en cm.

Ejemplo:

Δ Abs/min = 0,08
 Factor = 3333
 AST = 0,08 x 3333 = 267 U/L

NOTAS

- Los volúmenes del reactivo y de la muestra se pueden alterar de forma proporcional para adaptarse a los diferentes requerimientos del espectrofotómetro.
- Si el cambio en la absorbancia es mayor de 0,45/min, repita el ensayo con menos muestra o diluya con una disolución salina. Acuérdesse de ajustar el factor para el menor volumen de muestra o multiplicar el resultado final por el factor de dilución.
- Los resultados válidos dependen de un instrumento calibrado con precisión, de la distribución, y del control de la temperatura.
- El coeficiente de absorción milimolar para el NADH a 334 nm = 6,18 y a 365 nm = 3,40.
- Conversión de unidades: U/L x 16,67 x 10⁻³ = μ kat/L

CALIBRACIÓN

No requerida. La velocidad de reacción se convierte a U/L de actividad por medio de un factor de cálculo. Consulte la sección de calibración de este folleto.

CONTROL DE CALIDAD

Para asegurar un control de calidad adecuado, se deberían introducir controles normales y anormales con valores ensayados como muestras desconocidas:-

- Al menos una vez al día o según lo establecido por el laboratorio.
- Cuando se use una nueva botella de reactivo.
- Después de realizar un mantenimiento preventivo o de sustituir un componente crítico.

Los resultados de control que caen fuera de los límites superior o inferior de los intervalos establecidos indican que el ensayo puede estar fuera de control. En tales situaciones se recomiendan las siguientes acciones correctoras:

- Repetir los mismos controles.
- Si los controles repetidos están fuera de los límites, preparar suero de control fresco y repetir la prueba.
- Si los resultados del material de control fresco aún permanecen fuera de los límites, repita la prueba con reactivo fresco.
- Si los resultados aún están fuera de control, contacte con el Servicio Técnico o con su distribuidor local.

LIMITACIONES

- Se llevaron a cabo estudios para determinar el nivel de interferencia debida a la hemoglobina, a la bilirrubina y a la piruvato. Se obtuvieron los siguientes resultados:

Hemoglobina: No se observa interferencia debida a hemoglobina hasta 500 mg/dL.

Bilirrubina libre: No se observa interferencia debida a la bilirrubina libre hasta 684 μ mol/L (40 mg/dL).

Bilirrubina conjugada: No se observa interferencia debida a la bilirrubina conjugada hasta 684 μ mol/L (40 mg/dL).

Piruvato: No se observa interferencia debida a piruvato hasta 2,3 mmol/L (20 mg/dL).

- No se deben utilizar muestras de suero hemolizadas. Los niveles de actividad de la AST en eritrocitos son unas 15 veces más altos que en suero.⁵
- Evite el uso de muestras lipémicas.
- Young DS⁶ ha publicado una amplia lista de medicamentos y sustancias que pueden interferir con este ensayo.

VALORES ESPERADOS⁴

A 37°C 534 U/L (0,084 - 0,568 μ kat/L)

En neonatos y lactantes se observan niveles del doble aproximadamente de los niveles en adultos. Esos niveles disminuyen hasta niveles normales de adultos tras 6 meses.

Los valores indicados son representativos del intervalo esperado para este procedimiento y únicamente deberían servir como guía. Se recomienda que cada laboratorio verifique este intervalo o derive un intervalo de referencia para la población que atiende.⁷

DATOS DE FUNCIONAMIENTO

Los siguientes datos se obtuvieron usando el reactivo líquido de AST(GOT) de dos partes en un analizador químico clínico automatizado con un buen mantenimiento. Los usuarios deberían establecer un comportamiento del producto en su analizador específico usado.

IMPRECISIÓN

La imprecisión se evaluó usando dos niveles de controles comerciales y siguiendo el procedimiento NCCLS EP5-T.⁸

Intra análisis:	NIVEL I	NIVEL II
Número de puntos de datos	80	80
Media (U/L)	25,4	169,7
Media (μ kat/L)	0,424	2,83
DD (U/L)	0,93	1,80
DD (μ kat/L)	0,016	0,030
CV (%)	3,7	1,1

Total:	NIVEL I	NIVEL II
Número de puntos de datos	80	80
Media (U/L)	25,4	169,7
Media (μ kat/L)	0,424	2,83
DD (U/L)	1,36	6,84
DD (μ kat/L)	0,023	0,114
CV (%)	5,3	4,0

COMPARACIÓN DEL MÉTODO

Los estudios de comparación se llevaron a cabo usando un reactivo de AST(GOT) disponible comercialmente similar como referencia. Se ensayaron las muestras de suero en paralelo y los resultados se compararon mediante una regresión de mínimos cuadrados. Se obtuvieron las siguientes estadísticas:

Número de pares de muestras	64
Intervalo de resultados de las muestras	9 - 204 U/L (0,150 - 3,41 μ kat/L)
Media de los resultados de los procedimientos de referencia	47 U/L (0,785 μ kat/L)
Media de los resultados de AST(GOT)	39 U/L (0,651 μ kat/L)
Pendiente	0,84
Ordenada en el origen	-0,92 U/L (-0,015 μ kat/L)
Coefficiente de correlación	0,999

LINEALIDAD

Cuando se realiza según las recomendaciones, el ensayo resulta lineal hasta 1500 U/L (25,1 μ kat/L).


SENSIBILIDAD ANALÍTICA

Cuando se realiza según las recomendaciones, la sensibilidad de este ensayo es de 0,30 Δ mA/min por U/L (18,0 Δ mA/min por μ kat/L).

BIBLIOGRAFÍA

- Zilva JF, Pannall PR. "Plasma Enzymes in Diagnosis" in Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment. Lloyd-Luke London. 1979; Chap 15:338-9.
- Karmen A. J Clin Investigation 1955; 43:131.
- Henry RJ, et al. Am J Clin Path 1960; 34:381.
- Murray RL. "Aspartate aminotransferase" in Clinical Chemistry. Theory, analysis and correlation. Kaplan LA, Pesce AJ (Ed), CV Mosby Company 1984; 1105-8.
- Burtis CA, Ashwood ER, "Tietz textbook of Clinical Chemistry" Second Edition, 1994; 795.
- Young DS, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition. 1990: 3:45-52.
- Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry devices NCCLS, 1984, NCCLS Publication EP5-T.

© 2008 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. Hitachi is a registered trademark of Roche Diagnostics, Indianapolis, IN 46250. iLab 600 is a registered trademark of Instrumentation Laboratory Company, Lexington, MA 02421. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

 Fisher Diagnostics
 a division of Fisher Scientific Company, LLC
 a subsidiary of Thermo Fisher Scientific Inc.
 Middletown, VA 22645-1905 USA
 Phone: 800-528-0494
 540-869-3200
 Fax: 540-869-8132

 MDCI Ltd.
 Arundel House
 1 Liverpool Gardens
 Worthing, West Sussex BN11 1SL UK

**REF****Información de Pedidos**

No de Catalogue	REAG 1	REAG 2
TR17920	1 x 125 mL	1 x 35 mL
TL17901 (iLab 600)	5 x 80 mL	5 x 20 mL
TH17901 (Hitachi)	4 x 80 mL	4 x 20 mL
TY17901 (Hitachi)	4 x 53 mL	4 x 15 mL
7500-106A	4 x 500 mL	
7500-206A		2 x 250 mL