

GOT / AST U.V. LÍQUIDA

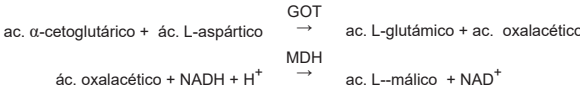
MÉTODO IFCC

Para la determinación “in vitro” de la Aspartato aminotransferasa GOT/AST en suero o plasma



PRINCIPIO DEL TEST

El enzima glutámico-oxalacético transaminasa (GOT) actualmente llamada AST, cataliza la reacción entre el Ac. L-aspartico y el ác. α-cetoglutarico. El ácido oxalacético formado se reduce por el cofactor NADH en presencia del enzima auxiliar MDH, produciéndose un cambio en la Abs del medio. La presencia de LDH en la formulación elimina el piruvato endógeno que podría dar lugar a interferencias. En condiciones óptimas de reacción, la ΔAbs/min es proporcional a la concentración de enzima GOT presente en la muestra.



UTILIDAD DIAGNÓSTICA

Se observan incrementos de la actividad GOT en suero en casos de daño hepático: hepatitis de diversos tipos, necrosis o daño en hepatocitos, ictericia colestática. Se observan también niveles elevados en enfermedades que afectan al músculo cardíaco. En hepatitis alcohólica y en infarto agudo de miocardio, el aumento de la actividad GOT es mayor que el de la actividad GPT.

Una única prueba de laboratorio no permite establecer un diagnóstico. Los resultados se han de evaluar en el contexto de todos los datos clínicos y de laboratorio obtenidos

REACTIVOS

Kit 1 x 50 mL. (Ref. 99 80 03). Contiene:

- A. 1 x 40 mL Disolución de enzimas
- Ref. 99 61 07
- B. 1 x 10 mL Sustrato líquido
- Ref. 99 22 00

Kit 1 x 250 mL. (Ref. 99 95 00). Contiene:

- A. 2 x 100 mL Disolución de enzimas
- Ref. 99 95 20
- B. 1 x 50 mL Sustrato líquido
- Ref. 99 21 65

Kit 1 x 940 mL. (Ref. 99 04 06). Contiene:

- A. 3 x 250 mL Disolución de enzimas
- Ref. 99 04 02
- B. 1 x 190 mL Sustrato líquido
- Ref. 99 04 11

PREPARACIÓN DEL REACTIVO DE TRABAJO

Los reactivos A y B, están listos para su uso. En caso de que se quiera trabajar como monorreactivo: mezclar las cantidades deseadas manteniendo la proporción de 4 partes de A (disol. de enzimas) + 1 parte de B (sustrato líquido).

COMPOSICIÓN DEL REACTIVO DE TRABAJO

Las concentraciones en la disolución reactiva son:	
Tampón Tris-HCl pH 7,8	80 mM
ác. L-aspartico	240 mM
ác. α-cetoglutarico	12 mM
NADH	0,18 mM
MDH	≥ 600 U/L
LDH	≥ 800 U/L
Estabilizantes y conservantes	

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Los componentes del kit almacenados a 2-8° C, son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Una vez mezclados los componentes A y B, la disolución monorreactiva es estable 4 semanas mantenida a 2-8°C y 1 semana a temperatura ambiente (≤ 25°C), siempre al abrigo de la luz.

Indicaciones de alteración de los reactivos:

Presencia de turbidez o de partículas. Blanco del reactivo de trabajo ≤ 1,0

MATERIAL NECESARIO NO SUMISTRADO

Material común de laboratorio. Espectrofotómetro, analizador automático o fotómetro termostatzado a 37°C. Cubeta de 1cm de paso de luz.

MUESTRA

Suero o plasma con heparina o EDTA. Utilizar muestras exentas de hemólisis. Los sueros mantenidos a 2-8°C, pierden aproximadamente el 10% de actividad a los 3 días.

PRECAUCIONES

Los reactivos contienen azida sódica al 0,09%, manipular con precaución. Las indicaciones de seguridad se encuentran en la etiqueta de los productos. El calibrador debe considerarse como una muestra humana y por lo tanto potencialmente infeccioso. Utilizar protección adecuada. Se aconseja consultar la ficha de datos de seguridad antes de la manipulación del reactivo. La eliminación de residuos debe hacerse según la normativa local vigente.

CONTROL DE CALIDAD

Es recomendable la inclusión de sueros control, Seriscann Normal (Ref. 994148/996571) y Seriscann Anormal (Ref. 994685/999329) en cada proceso de medida para verificar los resultados. Se recomienda calibrar con el Calibrador para Autoanalizadores (Ref. 996280) siempre que se cambie el lote de reactivo y/o calibrador y/o los sueros control no entren dentro de los márgenes.

AUTOANALIZADORES

Adaptaciones a distintos analizadores automáticos están disponibles bajo demanda.

PROCEDIMIENTO

El método que aquí se describe es el propuesto por la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC). Atemperar el reactivo de trabajo y llevar el instrumento a la temperatura de medición.

Técnica Monorreactiva	25/30°C	37°C
Reactivo de trabajo	1,0 mL	1,0 mL
Muestra	0,2 mL	0,1 mL
Mezclar e incubar aprox. 1 min		
Técnica Birreactiva	25/30°C	37°C
Disol. enzimas (A)	1,0 mL	1,0 mL
Muestra	0,2 mL	0,1 mL
Sustrato tamponado (B)	0,25 mL	0,25 mL

Mezclar y poner en marcha el cronómetro. Transferir a la cubeta de lectura y leer las absorbancias después de 1, 2 y 3 min. Determinar la ΔAbs/min promedio de las lecturas.

Lectura

Longitud de onda: 334 nm; 340 nm; 365 nm
Blanco: Agua
Cubeta termostatzada: 1 cm de paso de luz

CÁLCULOS

Se utiliza la fórmula indicada para obtener el factor para calcular las U/L:

$$\Delta\text{Abs/min} \times \frac{Vt \times 10^6}{\epsilon \times l \times Vs} = \text{U/L}$$

Donde:

Vt: Volumen total de la mezcla de reacción

Vs: Volumen de muestra

l: Paso de luz de la cubeta

ε: Coeficiente de extinción molar de NADH

365 nm: 3,40 x 10³

340 nm: 6,31 x 10³

334 nm: 6,17 x 10³

Técnica Monorreactiva

	25/30°C	37°C
334 nm	ΔAbs/min x 970=U/L	ΔAbs/min x 1780=U/L
340 nm	ΔAbs/min x 950=U/L	ΔAbs/min x 1745=U/L
365 nm	ΔAbs/min x 1765=U/L	ΔAbs/min x 3235=U/L

Técnica Birreactiva

	25/30°C	37°C
334 nm	ΔAbs/min x 1175=U/L	ΔAbs/min x 2185=U/L
340 nm	ΔAbs/min x 1150=U/L	ΔAbs/min x 2140=U/L
365 nm	ΔAbs/min x 2130=U/L	ΔAbs/min x 3970=U/L

VALORES DE REFERENCIA

Temperatura	Hombres	Mujeres
25 °C	≤ 18 U/L	≤ 15 U/L
30 °C	≤ 25 U/L	≤ 21 U/L
37 °C	≤ 37 U/L	≤ 31 U/L

Los valores indicados son a título orientativo. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

PRESTACIONES. CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Las características de funcionamiento del producto dependen tanto del reactivo como del sistema de lectura manual o automático empleados. Se aconseja que se determinen estos valores para cada metodología específica. Los datos indicados se han obtenido con la metodología automática para el autoanalizador BT 3500.

Sensibilidad, como límite de detección: 1.5 U/L

Linealidad: Hasta 520 U/L. Para valores superiores se aconseja diluir la muestra 1/10 con salina (NaCl 0,9%) y repetir el ensayo. Multiplicar el resultado por 10.

Exactitud, como % de recuperación: 96%

Precisión en la serie, como Coeficiente de Variación: 1,42 %

Precisión entre series, como Coeficiente de Variación: 2,83%

Veracidad: Los resultados obtenidos con el reactivo no presentan diferencias significativas al compararlo con el reactivo considerado de referencia.

Los datos detallados del estudio de las prestaciones del reactivo están disponibles bajo demanda.

INTERFERENCIAS

Sueros muy hemolizados interfieren en el ensayo (a partir de 500mg/dL). No se observan interferencias por bilirrubina hasta 30mg/dL. Las muestras muy activas pueden dar lugar a una reacción muy rápida con extinciones iniciales bajas, al ser consumido el NADH en el primer minuto de reacción. En este caso se deberá diluir la muestra 1/10 con salina (NaCl 0,9%), y repetir el ensayo. Multiplicar el resultado por 10.

BIBLIOGRAFÍA

Bergmeyer, H.U., Scheibe, P., Wahlefeld, A.W. (1978). Clin. Chem., 24, 58 - 73.
IFCC, (2002). Clin. Chem. Lab. Met., 40, 631-634.
Bergmeyer, H.U., et. al (1986). J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 24,497.
Isherwood, D., (1979), Med. Lab. Sci., 36, 211-235
Tietz, NW., Textbook of Clinical Chemistry 5th Edition, W.B. Saunders, Philadelphia (2012).



GOT / AST U.V. LIQUID

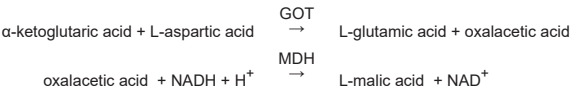
IFCC METHOD

For “in vitro” determination of Aspartate aminotransferase GOT/AST in serum or plasma



PRINCIPLE

The glutamic-oxalacetic transaminase (GOT), actually AST, catalyzes the reaction between L-aspartic acid and α-ketoglutaric acid. The oxalacetic acid formed is reduced by NADH with the aid of auxiliary enzyme MDH. The change of NADH to NAD⁺ produces a change of Abs. The reaction media contains, also, LDH to remove endogenous pyruvate to avoid possible interferences. In optimum reaction conditions the ΔAbs/min is directly related to GOT concentration in the sample.



DIAGNOSTIC USE

Increases in GOT activity were observed in cases of liver damage: hepatitis of various types, necrosis or damage in hepatocytes, cholestatic ictericia. High levels are also seen in diseases affecting the heart muscle. In alcoholic hepatitis and acute myocardial infarction, the increase of GOT activity is greater than the activity of GPT.

Single test result can not be used to make a clinical diagnosis. It should integrate clinical and laboratory data.

REAGENTS

Kit 1 x 50 mL. (Ref. 99 80 03). Contents:
A. 1 x 40 mL Enzymes solution Ref. 99 61 07
B. 1 x 10 mL Liquid substrate Ref. 99 22 00

Kit 1 x 250 mL. (Ref. 99 95 00). Contents:
A. 2 x 100 mL Enzymes solution Ref. 99 95 20
B. 1 x 50 mL Liquid substrate Ref. 99 21 65

Kit 1 x 940 mL. (Ref. 99 04 06). Contents:
A. 3 x 250 mL Enzymes solution Ref. 99 04 02
B. 1 x 190 mL Liquid substrate Ref. 99 04 11

WORKING REAGENT PREPARATION

Reagents A and B are ready-to-use. If a monoreagent procedure is preferred, then the reagents must be mixed in the ratio: 4 parts of A (enzymes solution) + 1 part of B (liquid substrate).

WORKING REAGENT COMPOSITION

The concentrations in the reagent solution are:
Tris-HCl buffer pH 7.8 80 mM
L-aspartic acid 240 mM
α-ketoglutaric acid 12 mM
NADH 0.18 mM
MDH ≥ 600 U/L
LDH ≥ 800 U/L
Stabilizers and preservatives

STORAGE AND STABILITY

The components of the kit, stored at 2-8°C, will remain stable until the expiration date stated on the label. The Monoreagent is stable for 4 weeks at 2-8°C and for 1 week at room temperature (≤ 25°C), when protected from the sunlight.

Signs of reagent deterioration:

Presence of particles or turbidity in the reagent. Working reagent blank ≤ 1.0

ADDITIONAL EQUIPMENT

General laboratory equipment.
Spectrophotometer or photometer thermostatable at 37°C. Cuvette: 1 cm light-path.

SAMPLE

Serum or plasma with EDTA or heparin. Samples free from hemolysis should be used. Sera kept at 2-8°C loses ca. 10% of its activity after 3 days.

CAUTION

The reagents contain sodium azide at 0.09%. Handle with care.
The safety statements are on the label. It is advisable to look at the SDS before using the reagent.
The calibrator must be considered as a human sample, and, thus, potentially infectious. Use adequate protection.
The disposal of the residues has to be made according to local regulations.

QUALITY CONTROL

Control serum, Seriscann Normal (Ref. 994148/996571) and Seriscann Anormal (Ref. 994685/999329) should be included in each test series. It is recommended to calibrate with the Calibrator for Autoanalyzers (Ref. 99 62 80) whenever the batch of reagent and/or calibrator is changed

AUTOANALYZERS

Adaptations to different autoanalyzers are available on request.

PROCEDURE

The described method is the one proposed by the International Federation of Clinical Chemistry (IFCC). Bring reagents and the analyzer to working temperature.

Monoreagent technique	25/30°C	37°C
Working reagent	1.0 mL	1.0 mL
Sample	0.2 mL	0.1 mL
Bireagent technique	25/30°C	37°C
Enzymes sol.(A)	1.0 mL	1.0 mL
Sample	0.2 mL	0.1 mL
Mix, incubate for approx. 1 min		
Substrate (B)	0.25 mL	0.25 mL

Mix and start the stopwatch. Read the absorbance after 1, 2 and 3 min
Determine the mean of Abs/min of different lectures.

Reading

Wavelength: 334 nm; 340 nm; 365 nm
Blank: Water.
Cuvette: Thermostated, 1 cm light-path

CALCULATIONS

The formula indicated is used to obtain the factor to calculate the U/L

$$\Delta\text{Abs/min} \times \frac{V_t \times 10^6}{\epsilon \times l \times V_s} = \text{U/L}$$

Vt: Total reaction volume
Vs: Sample volume
l: Cuvette light path
ε: Extinction coefficient of NADH:
365 nm: 3.40 x 10³
340 nm: 6.31 x 10³
334 nm: 6.17 x 10³

Monoreagent procedure

	25/30°C	37°C
334 nm	ΔAbs/min x 970=U/L	ΔAbs/min x 1780=U/L
340 nm	ΔAbs/min x 950=U/L	ΔAbs/min x 1745=U/L
365 nm	ΔAbs/min x 1765=U/L	ΔAbs/min x 3235=U/L

Bireagent procedure

	25/30°C	37°C
334 nm	ΔAbs/min x 1175=U/L	ΔAbs/min x 2185=U/L
340 nm	ΔAbs/min x 1150=U/L	ΔAbs/min x 2140=U/L
365 nm	ΔAbs/min x 2130=U/L	ΔAbs/min x 3970=U/L

REFERENCE VALUES

Temperature	Men	Women
25 °C	≤ 18 U/L	≤ 15 U/L
30 °C	≤ 25 U/L	≤ 21 U/L
37 °C	≤ 37 U/L	≤ 31 U/L

The stated values are for guidance. Each particular laboratory should establish its own normal range, using its own instrumentation, blood collection methods and test procedures

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The performance characteristics depend on the method used. It is recommended to calculate these data for each particular test protocol. The indicated results have been obtained using a automatic method for the BT 3500 autoanalyzer.

Sensitivity, as detection limit: 1.5 U/ml
Linearity: Up to 520 U/L. For higher values, it is recommended to dilute the sample 1/10 in saline (NaCl 0.9%) and assay once again. Multiply the final result by 10.
Accuracy: 96 %
Repetitivity, as Coefficient of Variation: 1.42%
Reproducibility, as Coefficient of Variation: 2.83%
Trueness: Results obtained with this reagent did not show systematic differences when compared with reference reagent.
Details of the performance studies are available on request

INTERFERENCES

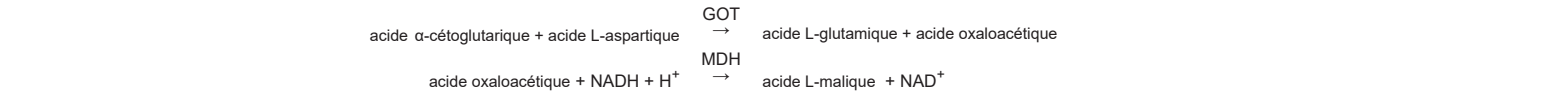
Highly haemolysed sera will interfere with the reaction (from 500mg/dL). No bilirubin interference is observed up to 30mg/dL. When assaying high activity samples, a very low initial absorbance can be found which is mainly due to the rapid conversion of the NADH at the early stage of the reaction. In such a case, dilute the sample with saline (NaCl 0.9%) 1/10 and assay it once again. Multiply the final result by 10.

REFERENCES

Bergmeyer, H.U., Scheibe, P., Wahlefeld, A.W. (1978). Clin. Chem., 24, 58 - 73.
IFCC, (2002), Clin. Chem. Lab. Met., 40, 631-634.
Bergmeyer, H.U., et. al (1986). J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 24,497.
Isherwood, D., (1979), Med. Lab. Sci., 36, 211-235.
Tietz, NW., Textbook of Clinical Chemistry 5th Edition, W.B. Saunders, Philadelphia (2012).



PRINCIPE
L'enzyme transaminase glutamique-oxaloacétique (GOT), actuellement AST, catalyse la réaction entre l'acide L-aspartique et l'acide α-cétoglutarique. L'acide oxaloacétique formé est réduit par le cofacteur NADH à l'aide d'une enzyme MDH auxiliaire, produisant un changement de l'Abs du milieu. La formule contient également de la LDH pour supprimer le pyruvate endogène pour éviter les interférences. Dans des conditions de réaction optimales la ΔAbs/min est directement liée à la concentration d'enzyme GOT dans l'échantillon.



UTILITÉ DE DIAGNOSTIC
Des augmentations de l'activité GOT ont été observées dans le sérum dans les cas de lésions hépatiques: hépatite de divers types, nécrose ou lésions des hépatocytes et ictere cholestatique. Des niveaux élevés sont également observés dans les maladies affectant le muscle cardiaque. En cas d'hépatite alcoolique et d'infarctus aigu du myocarde, l'augmentation de l'activité GOT est supérieure à celle de l'activité GPT.
Un test de laboratoire unique ne peut pas établir un diagnostic. Les résultats doivent être évalués dans le contexte de toutes les données cliniques et de laboratoire obtenues.

RÉACTIFS	
Kit 1 x 50 mL. (Réf. 99 80 03). Contenu:	
A. 1 x 40 mL Solution d'enzymes	Réf. 99 61 07
B. 1 x 10 mL Substrat liquide	Réf. 99 22 00

Kit 1 x 250 mL. (Réf. 99 95 00). Contenu:	
A. 2 x 100 mL Solution d'enzymes	Réf. 99 95 20
B. 1 x 50 mL Substrat liquide	Réf. 99 21 65

Kit 1 x 940 mL. (Réf. 99 04 06). Contenu:	
A. 3 x 250 mL Solution d'enzymes	Réf. 99 04 02
B. 1 x 190 mL Substrat liquide	Réf. 99 04 11

Monoréactif technique	25/30°C	37°C
R. de travail	1,0 mL	1,0 mL
Échantillon	0,2 mL	0,1 mL

Biréactif technique	25/30°C	37°C
Solution d'enzymes (A)	1,0 mL	1,0 mL
Échantillon	0,2 mL	0,1 mL
Mélanger et incuber pendant environ 1 minute		
Substrat (B)	0,25 mL	0,25 mL

Mélanger puis mettre en marche le chronomètre. Transférer à la cuvette de lecture puis lire les absorbances après 1, 2 et 3 minutes.
Déterminer la valeur ΔAbs/min obtenue à chaque lecture ainsi que la valeur moyenne.

Lecture
Longueur d'onde: 334 nm; 340 nm; 365 nm
Blanc: eau
Cuvette: thermostatée de 1 cm de trajet optique

CALCULS
En utilisant la formule indiquée pour obtenir le facteur de calcul des U/L :

$$\Delta\text{Abs/min} \times \frac{V_t \times 10^6}{\epsilon \times l \times V_s} = \text{U/L}$$

Vt: Volume total;
Vs: Volume de l'échantillon;
l: trajet optique;
ε: Coefficient d'extinction de NADH
365 nm: 3,40 x 10³
340 nm: 6,31 x 10³
334 nm: 6,17 x 10³

Technique Mode Monoréactif		
	25/30°C	37°C
334 nm	ΔAbs/min x 970=U/L	ΔAbs/min x 1780=U/L
340 nm	ΔAbs/min x 950=U/L	ΔAbs/min x 1745=U/L
365 nm	ΔAbs/min x 1765=U/L	ΔAbs/min x 3235=U/L

Technique Mode Biréactif		
	25/30°C	37°C
334 nm	ΔAbs/min x 1175=U/L	ΔAbs/min x 2185=U/L
340 nm	ΔAbs/min x 1150=U/L	ΔAbs/min x 2140=U/L
365 nm	ΔAbs/min x 2130=U/L	ΔAbs/min x 3970=U/L

VALEURS DE RÉFÉRENCE		
Température	Hommes	Femmes
25 °C	≤ 18 U/L	≤ 15 U/L
30 °C	≤ 25 U/L	≤ 21 U/L
37 °C	≤ 37 U/L	≤ 31 U/L

Les valeurs sont indicatives. Il est recommandé que chaque laboratoire établisse ses propres valeurs de référence.

PERFORMANCE. CARACTÉRISTIQUES DE FONCTIONNEMENT
Le fonctionnement du produit dépend tant du réactif que du système de lecture manuel ou automatique utilisé. Les résultats suivants ont été obtenues avec une méthode automatique pour l'autoanalyseur BT 3500.

Sensibilité comme limite de détection: 1.5 U/L
Linéarité: L'essai est linéaire 520 U/L. Pour des concentrations plus élevées, diluer l'échantillon 1/10 avec une solution saline (NaCl 0,9%). Multiplier le résultat par 10.
Exactitude: le pourcentage de récupération est de 96 %.
Coefficient de variation dans la série: 1,42 %
Coefficient de variation entre les séries: 2,83 %
Justesse. Les résultats obtenus avec le réactif ne sont pas significativement différents par rapport au réactif de référence considéré.
L'étude détaillée de la performance du réactif est disponible sur demande.

INTERFÉRENCES
Les sérum très hémolysés interfèrent avec l'essai (à partir de 500mg/dL). Aucune interférence de la bilirubine n'est observée jusqu'à 30mg/dL. Les échantillons à très forte activité peuvent produire une réaction très rapide avec des extinctions initiales basses, car le NADH est consommé pendant la première minute de la réaction. Dans ce cas, diluer l'échantillon au 1/10 avec une solution saline (NaCl 0,9%) et répéter l'essai. Multiplier le résultat par 10.

BIBLIOGRAPHIE
Bergmeyer, H.U., Scheibe, P., Wahlefeld, A.W. (1978). Clin. Chem., 24, 58 - 73.
IFCC, (2002), Clin. Chem. Lab. Met., 40, 631-634.
Bergmeyer, H.U., et coll. (1986). J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 24, 497.
Isherwood, D., (1979), Med. Lab. Sci., 36, 211-235.
Tietz, NW., Textbook of Clinical Chemistry 5th Edition, W.B. Saunders, Philadelphia (2012).