

**ASAT (GOT) FS\* (IFCC mod.)**

Con/sin piridoxal-5-fosfato

**Reactivo de Diagnóstico para la determinación cuantitativa *In Vitro* de GOT/AST en suero o plasma en equipos fotométricos****Información de Pedido**

Nº de pedido	Tamaño del envase					
1 2601 99 10 021	R1	5 x	20 mL	+	R2	1 x 25 mL
1 2601 99 10 026	R1	5 x	80 mL	+	R2	1 x 100 mL
1 2601 99 10 023	R1	1 x	800 mL	+	R2	1 x 200 mL
1 2601 99 10 704	R1	8 x	50 mL	+	R2	8 x 12.5 mL
1 2601 99 10 917	R1	8 x	60 mL	+	R2	8 x 15 mL
1 2601 99 90 314	R1	10 x	20 mL	+	R2	2 x 30 mL
1 2601 99 10 920	4 x 200 test					

Para la determinación con activación con piridoxal-5-fosfato se requiere:  
 2 5010 99 10 030 6 x 3 mL

**Resumen [1,2]**

Alanino Aminotransferasa (ALAT/ALT), formalmente llamada Transaminasa Glutámico Pirúvica (GPT) y Aspartato Aminotransferasa (ASAT/AST) antes llamada Transaminasa Glutámico Oxalacética (GOT) son las más importantes representantes de un grupo de enzimas, las amino-transferasas o transaminasas, las cuales catalizan la conversión de alfa-ceto ácidos en aminoácidos por la transferencia de grupos amino.

Como una enzima hepática específica el ALT está sólo significativamente elevada en las enfermedades hepatobiliares. Los elevados niveles de AST, sin embargo, pueden ocurrir en conexión con daños del corazón o del músculo esquelético así como también del parénquima hepático. La medición paralela del ALT y el AST es por lo tanto aplicada para distinguir los daños hepáticos de los del corazón o del músculo esquelético.

La razón AST/ALT es utilizada para el diagnóstico diferencial en enfermedades hepáticas. Mientras que las razones < 1 indican un leve daño hepático, las razones > 1 son asociadas con enfermedades hepáticas severas, con frecuencia crónicas.

**Método**

Test UV optimizado según la IFCC (Federación Inter-nacional de Química Clínica y Medicina de Laboratorio) [modificado]

**Principio**

L-aspartato + 2-Oxoglutarato  $\xleftarrow{\text{GOT}}$

L-Glutamato + Oxalacetato

Oxalacetato + NADH + H<sup>+</sup>  $\xleftarrow{\text{MDH}}$  L-Malato + NAD<sup>+</sup>

La adición de piridoxal 5-fosfato (P-5-P) se estabiliza la actividad de las transaminasas y evita valores falsamente bajos en muestras que contienen insuficientemente del P-5-P endógeno, por ejemplo de pacientes con infarto de miocardio, enfermedad hepática y pacientes en cuidado intensivo [1].

**Reactivos****Componentes y Concentraciones**

<b>R1:</b>	TRIS	pH 7,65	110 mmol/L
	L-Aspartato		320 mmol/L
	MDH (malato deshidrogenasa)		≥ 800 U/L
	LHD (lactato deshidrogenasa)		≥ 1200 U/L
<b>R2:</b>	2-Oxoglutarato		65 mmol/L
	NADH		1 mmol/L
<b>Piridoxal-5-fosfato FS</b>			
	Solución tampón	pH 9,6	100 mmol/L
	Piridoxal-5-fosfato		13 mmol/L

**Instrucciones de Almacenamiento y Estabilidad del Reactivo**

Los reactivos son estables hasta el final del mes indicado como fecha de expiración, si son almacenados entre 2 y 8 °C, y si se protegen de la luz y evita la contaminación. ¡No congelar los reactivos!

**Advertencias y Precauciones**

- Los reactivos contienen azida de sodio (0.95 g/L) como conservante. ¡No ingerir! Evitar el contacto con la piel y membranas mucosas.
- El reactivo 1 contiene material biológico. Tratar el producto como potencialmente infeccioso según las precauciones universales y la buena práctica de laboratorio.
- Excepcionalmente pueden obtenerse valores erróneos en muestras de pacientes con gammopatías [6].
- Consultar las fichas de seguridad de los reactivos y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación de reactivos de laboratorio. Para un correcto diagnóstico, se recomienda evaluar los resultados según la historia médica del paciente, los exámenes clínicos así como los resultados obtenidos con otros parámetros.
- ¡Únicamente para el empleo profesional!

**Manipulación de Desechos**

Por favor remitase a los requerimientos legales locales.

**Preparación del Reactivo****Inicio con sustrato**

Los reactivos son listos para usar.

Para la determinación con piridoxal-5-fosfato mezclar 1 parte de P-5-P con 100 partes del reactivo 1, por ejemplo 100 µL P-5-P + 10 mL R1

Estabilidad después de mezclar: 6 días de 2 a 8 °C  
24 horas de 15 a 25 °C

**Inicio con muestra****sin piridoxal-5-fosfato**

Mezclar 4 partes de R1 + 1 parte de R2  
(por ejemplo 20 mL R1 + 5 mL R2) = monoreactivo

Estabilidad: 4 semanas de 2 a 8 °C  
5 días de 15 a 25 °C

¡El monoreactivo debe protegerse de la luz!

**Materiales requeridos pero no suministrados**

Piridoxal-5-fosfato FS de DiaSys en caso de determinación con activación de P-5-P (Nº de pedido 2 5010 99 10 030)

Solución de NaCl 9 g/L

Equipo general de laboratorio

**Tipo de muestra**

Suero, plasma heparinizado o con EDTA

Estabilidad [3]:

4 días de 20 a 25 °C  
7 días de 4 a 8 °C  
3 meses de -20 °C

¡Desechar las muestras contaminadas! ¡Congelar sólo una vez!

**Procedimiento del Ensayo****Hay disponibles a petición aplicaciones para sistemas automáticos.**

Longitud de onda 340 nm, Hg 365 nm, Hg 334 nm  
Paso Óptico 1 cm  
Temperatura 37 °C  
Medición Contra el aire

**Inicio con sustrato**

<b>Muestra/Calibrador</b>	100 µL
<b>Reactivo 1</b>	1000 µL
Mezclar, incubar durante 5 min., luego añadir:	
<b>Reactivo 2</b>	250 µL
Mezclar, leer la absorbancia después de 1 min. y empezar a cronometrar.	
Leer la absorbancia nuevamente después de 1, 2 y 3 min.	

**Inicio con muestra**

No usar P-5-P en caso de inicio con muestra!

<b>Muestra/Calibrador</b>	100 µL
<b>Monoreactivo</b>	1000 µL
Mezclar, leer la absorbancia después de 1 min. y empezar a cronometrar.	
Leer la absorbancia nuevamente después de 1, 2 y 3 min.	

**Cálculo****Con factor**

De las lecturas de la absorbancia calcular  $\Delta A/\text{min}$  y multiplicar por el factor correspondiente de la tabla de más abajo:

 **$\Delta A/\text{min} \times \text{factor} = \text{actividad AST [U/L]}$** 

Inicio con sustrato 37 °C  
340 nm 2143  
334 nm 2184  
365 nm 3971

Inicio con muestra 37 °C  
340 nm 1745  
334 nm 1780  
365 nm 3235

**Con calibrador**

$$\text{ASAT [U/L]} = \frac{\Delta A / \text{min Muestra}}{\Delta A / \text{min Calibrador}} \times \text{Conc. Calibrador [U/L]}$$

**Factor de conversión**

$$\text{ASAT [U/L]} \times 0,0167 = \text{ASAT [\mu\text{kat/L}]}$$

**Inicio con muestra**

No usar P-5-P en caso de inicio con muestra!

<b>Muestra/Calibrador</b>	100 µL
<b>Monoreactivo</b>	1000 µL
Mezclar, leer la absorbancia después de 1 min. y empezar a cronometrar.	
Leer la absorbancia nuevamente después de 1, 2 y 3 min.	

**Cálculo****Con factor**

De las lecturas de la absorbancia calcular  $\Delta A/\text{min}$  y multiplicar por el factor correspondiente de la tabla de más abajo:

 **$\Delta A/\text{min}$  x factor = actividad AST [U/L]**

Inicio con sustrato	37 °C
340 nm	2143
334 nm	2184
365 nm	3971

Inicio con muestra	37 °C
340 nm	1745
334 nm	1780
365 nm	3235

**Con calibrador**

$$\text{ASAT [U/L]} = \frac{\Delta A / \text{min Muestra}}{\Delta A / \text{min Calibrador}} \times \text{Conc. Calibrador [U/L]}$$

**Factor de conversión**

$$\text{ASAT [U/L]} \times 0,0167 = \text{ASAT } [\mu\text{kat/L}]$$

**Calibradores y Controles**

Para la calibración de sistemas fotométricos automatizados se recomienda el uso del calibrador DiaSys TruCal U. Este método ha sido estandarizado frente a la fórmula original de la IFCC. Para el control interno de calidad los controles DiaSys TruLab N y P deberán probarse. Cada laboratorio debería establecer medidas correctoras en caso de obtener valores fuera del intervalo preestablecido.

	N° de pedido	Presentación
TruCal U	5 9100 99 10 063	20 x 3 mL
	5 9100 99 10 064	6 x 3 mL
TruLab N	5 9000 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9000 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9050 99 10 061	6 x 5 mL

**Características de Desempeño****Rango de Medida**

En equipos automatizados, el test sirve para determinar actividades de ASAT hasta 700 U/L.

En caso de un procedimiento manual, el test es apropiado para medir actividades de ASAT que correspondan a un máximo de  $\Delta A/\text{min}$  de 0,16 a 340 y 334 nm ó de 0,08 a 365 nm.

Si tal valor es excedido la muestra debería ser diluida 1 + 9 con solución de NaCl (9 g/L) y los resultados multiplicados por 10.

**Especificidad/Interferencias**

No se observó ninguna interferencia con el ácido ascórbico hasta 30 mg/dL, bilirrubina hasta 40 mg/dL, lipemia hasta 2000 mg/dL de triglicéridos. La presencia de hemoglobina en suero indica destrucción de eritrocitos con liberación de AST, produciendo así una elevada interferencia. Para más información sobre interferencias, véase Young DS [5]

**Sensibilidad/Límite de Prueba**

El límite más bajo de detección es 2 U/L.

**Precisión Sin P-5-P**

en la serie n = 20	valor medio [U/L]	DE [U/L]	CV [%]
Muestra 1	25,1	0,82	3,25
Muestra 2	51,3	1,57	3,06
Muestra 3	116	0,90	0,77

de un día a otro n = 20	valor medio [U/L]	DE [U/L]	CV [%]
Muestra 1	25,7	1,13	4,40
Muestra 2	48,6	0,67	1,38
Muestra 3	115	0,80	0,69

**Con P-5-P**

en la serie n = 20	valor medio [U/L]	DE [U/L]	CV [%]
Muestra 1	43,6	1,10	2,51
Muestra 2	74,5	1,79	2,41
Muestra 3	174	3,18	1,83

de un día a otro n = 20	valor medio [U/L]	DE [U/L]	CV [%]
Muestra 1	44,0	1,59	3,61
Muestra 2	77,0	3,05	3,97
Muestra 3	187	3,37	1,80

**Comparación de métodos****Con P-5-P**

Una comparación entre ASAT (GOT) FS de DiaSys con P-5-P (y) con el reactivo de referencia de la IFCC (x) utilizando 51 muestras dio los siguientes resultados:

$$y = 1,000 x - 0,800 \text{ U/L}; r = 0,999.$$

Una comparación entre ASAT (GOT) FS de DiaSys con P-5-P (y) y un test comercialmente disponible (x) utilizando 51 muestras dio los siguientes resultados:

$$y = 0,970 x + 0,350 \text{ U/L}; r = 0,999.$$

**Sin P-5-P**

Una comparación entre ASAT (GOT) FS de DiaSys sin P-5-P (y) y un test comercialmente disponible (x) utilizando 51 muestras dio los siguientes resultados:

$$y = 0,997 x + 0,621 \text{ U/L}; r = 1,000.$$

**Rango de Referencia****Con activación de piridoxal-5-fosfato**

Mujeres [4]	< 31 U/L	< 0,52 $\mu\text{kat/L}$
Hombres [4]	< 35 U/L	< 0,58 $\mu\text{kat/L}$
Niños [1]	1 – 3 años	< 50 U/L
	4 – 6 años	< 45 U/L
	7 – 9 años	< 40 U/L
	10 – 12 años	< 40 U/L
	13 – 15 años	< 35 U/L
	16 – 18 años	< 35 U/L

**Sin activación de piridoxal-5-fosfato**


Mujeres	< 31 U/L	< 0,52 $\mu\text{kat/L}$
Hombres	< 35 U/L	< 0,58 $\mu\text{kat/L}$

Cada laboratorio debe comprobar si los valores de referencia indicados son adecuados para sus pacientes y si es necesario, determinar sus propios valores de referencia.

**Bibliografía**

- Thomas L. Alanine aminotransferase (ALT), Aspartate aminotransferase (AST). In: Thomas L, editor. Clinical Laboratory Diagnostics. 1<sup>st</sup> ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 55-65.
- Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 617-721.
- Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1<sup>st</sup> ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 18-9.
- Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Féraud G et al. IFCC primary reference procedure for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 5: Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of aspartate aminotransferase. Clin Chem Lab Med 2002;40:725-33.
- Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 200.
- Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. ClinChemLabMed 2007;45(9):1240-1243.

**Fabricante**

**IVD**  DiaSys Diagnostic Systems GmbH  
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Alemania