



GQ-AST-60 1 x 60 mL	GQ-AST-100 1 x 100 mL	GQ-AST-125 1 X 125 mL	GQ-AST-250 1 x 250 mL
Reactivo utilizado para la determinación cuantitativa "In Vitro" AST en suero humano.			

BIALEX AST

SIGNIFICADO CLINICO:

La AST (Transaminasa Glutámico Oxalacética) pertenece al grupo de las transaminasa que, por transferencia de grupos amino, catalizan la inter-conversión de los aminoácidos a los alfa-cetoácidos correspondientes y viceversa. Esta enzima se encuentra ampliamente distribuida en varios tejidos del cuerpo humano. Aunque la mayor actividad de la AST se observa en el miocardio, también tiene una actividad importante en el cerebro, el hígado, la mucosa gástrica, el tejido adiposo, el músculo esquelético y los riñones.

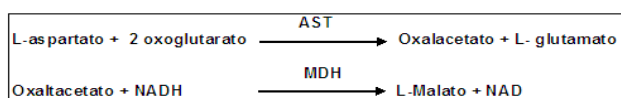
La AST se encuentra en el citoplasma y en las mitocondrias. En las lesiones leves de los tejidos, la mayor parte de la enzima que se libera proviene del citoplasma, sólo una pequeña parte proviene de las mitocondrias. En caso de daño más severo, se libera una mayor cantidad de enzima proveniente de las mitocondrias.

Se puede encontrar altas concentraciones de AST en el infarto del miocardio, hepatopatías (hepatitis viral, necrosis del hígado, cirrosis) distrofia muscular y otras lesiones orgánicas.

FUNDAMENTO DEL METODO:

Karmen desarrolló un procedimiento de ensayo cinético en 1995 el cual se basa en el uso de malato deshidrogenado y NADH. Procedimientos optimizados fueron presentados por Henry en 1960, y Amador y Wacker en 1962. Estas modificaciones aumentaron la exactitud y disminuyeron los efectos de interferencia de algunas sustancias. La IFCC en 1986 publicó un método el cual incluye P-5-P. El presente método se basa en las recomendaciones de la IFCC. Pero no contiene P-5-P debido a que el significado diagnóstico de AST se encuentra bajo estudio.

Principio:



La AST cataliza la transferencia del grupo amino de la L-aspartato 2-oxoglutarato para producir oxalacetato y L-Glutamato. El oxalacetato pasa por una reducción con la oxidación simultánea de NADH a NAD en la reacción catalizada por la Malato Deshidrogenasa (MDH). La tasa de reducción en absorbancia resultante a 340 nm es directamente proporcional a la actividad de la AST. Se agrega Deshidrogenasa láctica (LDH) para prevenir la interferencia del piruvato endógeno el cual normalmente se encuentra presente en el suero.

COMPOSICION DEL REACTIVO:

<u>Ingredientes activos</u>	<u>Concentración</u>
2-oxoglutarato	13 mM
L-aspartato	220 mM
NADH	>0.12 mM
LDH	> 1500 U/L
MDH	> 100 U/L
Tris buffer	
pH (7.6 - 8.1)	

PRECAUCIONES:

Este reactivo es sólo para uso diagnóstico "In Vitro".

PREPARACION DE REACTIVO:

Reactivo "Listo para usar".

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO:

- Conservar entre 2°C a 8 °C.
- El reactivo es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

NO UTILIZAR EL REACTIVO SI:

1. El reactivo tiene una absorbancia menor a 1.000 a 340 nm.
2. El reactivo presenta turbidez.
3. No se obtiene los valores esperados al usar los respectivos controles.
4. Es comunicado por Bialex para retirar el producto del mercado.

COLECCION Y CONSERVACION DE LA MUESTRA:

- 1.-No utilizar muestras hemolizadas. Los hematíes contienen AST.
- 2.-El AST es estable por 3 días a temperatura ambiente, 7 días en refrigeración (2°C a 8°C) y un mes en congelación.
- 3.-Emplear únicamente tubos o recipiente adecuados para recoger y preparar las muestras. Centrifugar las muestras que contienen precipitado antes de efectuar las pruebas.
- 4.-Si las muestras se procesan en tubos primarios, seguir las instrucciones del fabricante de tubos con relación a la colección y almacenamiento de las muestras.

INTERFERENCIAS:

1. Los estudios realizados para determinar las interferencias de hemoglobina, bilirrubina y lipemia, mostraron los siguientes resultados:

Hemoglobina: Usar sueros no hemolizados ya que los hematíes contiene AST. Sin interferencia significativa (+/- 10 %) hasta 400 mg/dL

Bilirrubina: Sin interferencia significativa (+/-10%) hasta 22.7 mg/dL

Lipemia: Sin interferencia significativa (+/-10%) hasta 533 mg/dL medida como triglicéridos.

Para fines Diagnósticos, los resultados obtenidos en la prueba, siempre deben de ser evaluados en conjunto con la historia clínica del paciente.

Ver Young y col.⁸ para observar otras sustancias interferentes.

EQUIPO ADICIONAL REQUERIDO PERO NO INCLUIDO:

- 1.- Analizador de química clínica capaz de mantener temperatura constante a 37°C y medir absorbancia a 340nm.
- 2.- Material adicional requerido: pipetas, puntas descartables, agua desionizada / destilada, cronometro.
- 3.- Controles como los suministrados por Bialex o de otras casas comerciales.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO:

Procedimiento para el uso manual:

- 1) Identificar los tubos de prueba, tanto para muestras y controles, equilibre el reactivo y muestras a temp. amb.
- 2) Colocar 500 uL de reactivo en cada tubo de prueba y y pre incuba a 37°C por 3 minutos.
- 3) Calibrar el espectrofotómetro con un blanco de agua (desionizada) a 340 nm .

- 4) Añadir 50 uL de muestra problema y suero control a su correspondiente tubo de prueba, mezclar e incubar a 37°C por 1 minuto.

	MUESTRA O CONTROL
REACTIVO	500 uL
MUESTRA O CONTROL	50 uL

- 5) Exactamente despues del minuto medir la absorbancia a 340nm y registrar como A1
- 6) Continuar la incubación de la muestra de prueba a 37 °C por 2 minutos después de la primera lectura, tomar la segunda lectura y regístrela como A2
- 7) Calcular el promedio de la diferencia de las absorbancias por minuto tomadas
- $$(\Delta \text{ Abs./min.}) = \frac{(A1-A2)}{2}$$
- 8) El $\Delta \text{ Abs./min.}$ Multiplicado por el factor 2000(ver cálculos) es el resultado en U/L. El factor puede cambiar en relacion al equipo usado y cuveta, vea su certificado de analisis.

CÁLCULOS:

Una unidad (U/L) es definida como la cantidad de enzima que cataliza la transformación de un micromol de sustrato por minuto bajo las condiciones específicas.

$$\text{Actividad AST (U/L)} = \frac{(\Delta \text{ Abs./min.}) \times 1.10 \times 1000}{6.22 \times 0.10 \times 1.0} = (\Delta \text{ Abs./min.}) \times \text{factor (2000)}$$

Donde:

$\Delta \text{ Abs./min}$	= Diferencia de la Absorbancia (A1-A2/ 2)
1.10	= Volumen total de reacción (mL)
1000	= Factor de conversión de U/mL a U/L
6.22	= La absorbancia mili molar de NADH
0.10	= Volumen de muestra (mL)
1.0	= Paso de luz en cm.

Ejemplo de Calculo:

Si el promedio del cambio de absorbancia por minuto es: 0.12 entonces $0.12 \times 2000 = 240 \text{ U/L}$

PROCEDIMIENTO PARA USO AUTOMATIZADO:

Los parámetros son para ser utilizados como guía general para la adaptación al instrumento automatizado.

PARAMETROS:

Temperatura:	37°C
Longitud de onda:	340 nm
Tipo de Ensayo:	Ratio/Cinético
Dirección:	Decreciente
Relación: Muestra/Reactivo	1:10
Volumen de muestra:	30uL
Volumen de Reactivo:	300uL
Tiempo de Espera:	60 segundos
Tiempo de Lectura:	1 a 3 minutos

NOTA: Los volúmenes de muestra y reactivo pueden ser modificados proporcionalmente para adaptarlos a los requisitos de varios instrumentos, revise su protocolo de análisis.

Muestras con valores sobre los 600 U/L deben ser diluidos 1:1 con solución salina, reevaluados y el resultado multiplicado por 2.

VALORES REFERENCIALES:

5 – 34 U/L a 37°C.

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de referencia.

CALIBRACION:

El procedimiento esta estandarizado por medio de la absorbancia mili molar del NADH tomada como 6.22 a 340 nm bajo las condiciones descritas de la prueba.

CONTROL DE CALIDAD:

La integridad de la reaccion debe ser evaluada usando control de dos niveles con valores conocidos. Así mismo puede emplearse otro material de control apropiado

DESEMPEÑO:

Linealidad: Sera lineal de 1.2 hasta 600U/L. Muestras con valores mayores a 600U/L deberan ser diluidas 1:1 con solucion salina y ser evaluados nuevamente. El resultado final debe ser multiplicado por dos.

COMPARACION DEL METODO:

El siguiente estudio fueron obtenidos mediante estudios realizados con este procedimiento y uno similar.

Número de pares de muestra:	55
Rangos de muestras:	12.0 – 278.0 (U/L)
Coefficiente de Correlación:	0.9987
Pendiente:	0.9601
Intercepción:	- 4.1 (U/L)

Precisión:

Entre Corridas	Nivel1	Nivel2	Nivel 3
Promedio (U/L)	26.3	157.0	278.7
S.D. (U/L)	0.7	0.5	1.0
C.V. (%)	3.6	0.9	1.2

Entre Series:	Nivel1	Nivel2	Nivel 3
S.D. (U/L)	1.0	1.4	3.3
C.V. (%)	3.6	0.9	1.2

Sensitividad:

La sensibilidad de este reactivo cuando usado según recomendado es 0.245 $\Delta \text{mA/min}$ por U/L.

NOTA: Datos obtenidos mediante pruebas realizadas en el Synchron CX

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

- 1.-Tietz N. W. Fundamental of Clinical Chemistry, W.B. Saunders, Co., Phila, p674-675(1982).
- 2.-Henley, K.S. Pollard, HM, J. Lab. Clin. Med. 46:785 (1955).
- 3.- Wroblewski, F, La Due, J.S., Proc. Soc. Exp. Bio. Med. 91:569 (1956).
- 4.- Henry, R.J. et al, Am. J. Clin. Path. 34:381 (1960).
- 5.- Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Cjchemistry and Clinical Physiology, Scand. Clin. Lab. Invest. 32:291 (1974).
- 6.- Henry, R.J., Clínicl Chemistry: Principles and Technics, Harper and Row, New York, p522 (1968).
- 7.- Henry,J.B., Clinical Diagnostics & Management by Laboratory Methods, W.B. Saunders Con., Philadelphia, p. 1437 (1984).
- 8.- Young, et al. Clin Chem. 21:1D (1975).

Verifique el protocolo de análisis en:

Producto Fabricado por Bialex
850 E. Ohio St. Suite 12
Tucson, AZ 85714
United State of America



Contacto en Estados Unidos:
QC liable Dennis Klein Tel. 833-418-2116
eFAX@: 520-8422001
Para otros países llame a su distribuidor autorizado.

Visit us online:
www.bialexlab.com