



TECO GRAM S.A.
Av. San Jorge 428 y 10ma.
Guayaquil - Ecuador
042396966 – 042397979 – 042396610
tecogram@gye.satnet.net

Juego de Reactivos para Aspartato Aminotransferasa (T.G.O.)

JUEGO DE REACTIVOS PARA TGO

Para determinación cuantitativa de aspartato aminotransferasa (AST) en suero.

INTRODUCCIÓN

La aspartato aminotransferasa, conocida también como transaminasa glutámico oxalacética (TGO) es una enzima tisular que cataliza el intercambio de los grupos amino y keto en alfa aminoácidos y alfa-keto ácidos. La TGO está ampliamente distribuida en los tejidos, principalmente en el cardíaco, hepático, músculos y riñones. El deterioro de los tejidos, dan como resultado la salida de ésta enzima a la circulación general.

Después de infarto al miocardio, los niveles séricos de TGO se elevan y alcanzan un pico máximo entre las 48 y 60 horas posteriores. Las enfermedades hepatobiliares, tales como la cirrosis, carcinoma metastático y la hepatitis viral también incrementan los niveles de TGO.

La primera prueba cinética de TGO para propósitos diagnósticos fue descrita por Karmen y Col. en 1955 utilizando una reacción de malato deshidrogenasa (MDH) Y NADH. Este sistema de prueba fue evaluado y optimizado en 1960 por Henry y Col. en 1977 la federación internacional de Química Clínica recomendó un procedimiento de referencia para la medición de la AST, (TGO), basado en el procedimiento de Karmen, este reactivo emplea la formulación recomendada por la FIQC.

PRINCIPIOS

La reacción enzimática empleada en este examen de aspartato aminotransferasa es la siguiente:

AST

1. Aspartato + 2-Oxaglutarato ----> Oxalacetato + L-glutamato.
2. El reactivo reconstituido es estable por 8 horas a temperatura ambiente y por 21 días cuando es refrigerado inmediatamente.

DETERIORO DEL REACTIVO

El reactivo debe desecharse si:

1. Si la absorbancia inicial, leída contra agua a 340nm es inferior a 0.800.
2. Falla el reactivo para obtenerse los parámetros establecidos.

RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

Este examen es para realizarse con suero. Los informes indican AST en suero permanece estable a 4C. por un mínimo de 7 días. Muestras no hemolizadas no deberán ser usadas ya que los eritrocitos contienen quince veces más actividad de AST que el suero.

SUSTANCIAS QUE INTERFIEREN

El fosfato de peroxidal puede elevar los valores de AST al activar la apoenzima formada de la transaminasa. El fosfato de piroxidil se haya en el agua contaminada con crecimiento bacteriano altos niveles de piruvato pueden interferir también en el examen. Young y Col, dan una lista de medicamentos y otras drogas que interfieren en la determinación de la actividad de la AST. (TGO).

MATERIALES REQUERIDOS Y NO PROVISTOS

1. Pipetas de precisión.
2. Portatubos
3. Reloj
4. Espectrofotómetro con capacidad de lectura de 340 nm (UV)
5. Baño maría o bloque de calentamiento a 37C.

Oxalacetato + NADH +H -----> L-Malato + NADH + H₂O

La AST cataliza la transferencia de un grupo amino entre L-Aspartato y 2-Oxaglutarato. El Oxalacetato formada en primera reacción reacciona entonces con el NADH en presencia de la Malato deshidrogenasa (MDH) para formar NAD. La actividad de la AST se determina midiendo el rango de oxidación del NADH a 340nm. Se incluye en el reactivo la Lactato deshidrogenasa para convertir el piruvato endógeno de la muestra en lactato durante la fase anterior a la medición.

COMPOSICIÓN DEL REACTIVO

Cuando se reconstituye según indicaciones, el reactivo para AST contiene lo siguiente: (la concentración se refiere al reactivo reconstituido)

2-Oxaglutarato 12nM, L-Aspartato ácido 200nM, NADH 0.19nM, LDH 800U/L, MDH 600 U/L Buffer 100nM, pH 7.8 (+ o -) 0.1 preservativos no reactivantes.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para diagnostico "In Vitro".
Precaución: Los reactivos para diagnostico in vitro pueden ser dañinos, manipúlese de acuerdo con procedimientos de laboratorios adecuados entre lo que se debe considerar el evitar la ingestión y el contacto con los ojos y mucosas.
2. Las muestras deben considerarse infecciosas y deben manipularse debidamente.
3. Use agua destilada o desionizada cuando se indique.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

1. Mantengase en refrigeración entre 2 – 8 C.

INSTRUCCIONES GENERALES

El reactivo para AST está concebido para métodos tanto manuales como automatizados.

Valor (UI/L)	De corrida a corrida	
	D.S.	C.V.
21.9	2.3	4.8%
88.8	3.6	4.4%

PROCEDIMIENTO MANUAL

1. Reconstituya el reactivo de acuerdo a las indicaciones.
2. Pipetee 1.0ml de reactivo en un tubo o cubeta de 1cm y permita que se equilibre a 37C.
3. Agregue 0.10ml (100UL) de suero al reactivo y mézclelo bien.
4. Incúbese a 37C después de 60 Seg. Mida la absorbancia a 340nm.
5. Tome dos lecturas adicionales de absorbancia en un intervalo de un minuto. Calcule el cambio de absorbancia por minuto.
6. Lea la absorbancia pasado 60seg. de la primera lectura. Reste a la absorbancia inicial la segunda absorbancia obtenida y multiplíquese por el factor 1768 para obtener UI/L de actividad de la ALAT.
7. Muestras con valores de 500 UI/L deben de diluirse en proporción 1:1 con solución salina y deben ser procesadas nuevamente, y el resultado multiplicarlo por 2.

FACTOR DE CONVERSIÓN DE TEMPERATURA (FT)

Ensayo_	Ft 25 C.	Ft 30C.	Ft32C.	Ft37C
25 C.	1.00		1.37	
1.57	1.96			
30 C.	0.78		1.00	
1.13	1.43			
32 C.	0.65		0.89	
1.00	1.27			
37 C.	0.51		0.70	
0.73	1.00			

Ejemplo: Si la reacción se realizó a 30C. pero se va a reportar a 37C, simplemente multiplique el resultado obtenido a 30C. por el factor 1.43 para obtener el valor corregido.

Nota: puesto que los factores de temperatura solamente ofrecen una conversión aproximada, se sugiere que los valores sean reportados en la temperatura en que se realizó la reacción.

NOTAS DE PROCEDIMIENTO

La turbidez o ictericos elevados pueden dar resultados cuyas absorbancias iniciales excedan la capacidad del espectrofotómetro utilizando. En esos casos utilice 0.10 ml (100 ul) de muestra en un volumen de 3.0 ml de reactivo multiplique el resultado por 2.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda incluir controles en cada corrida de muestras. Pueden utilizarse controles comerciales con valores conocidos de ALAT. El valor teórico del control debe confirmarse por el método de cálculo de ésta técnica. Fallos al obtener el rango de valores adecuados en el control sistemático puede hablar a favor de deterioro del reactivo, mal funcionamiento instrumental o errores de técnica.

VALORES ESPERADOS

Hasta 28 UI/L a 30C.

Hasta 40 UI/L a 37C.

Es muy recomendable que cada laboratorio establezca su propio rango normal.

CARACTERISTICA DE LA PRUEBA

1. Linearidad: hasta 500 UI/L.
2. Comparación: un estudio de comparación entre este método y otro similar realizado con 25 sueros frescos con valores entre 12UI/L, arrojaron un coeficiente de 0.98 y una ecuación de regresión de $Y = 1.04 x - 1.25$.
3. Sensibilidad: realizada en una resolución instrumental de $A = 0-001$, dio una sensibilidad de 2 UI/L.
4. Estudios de la Presición:

Valor (UI/L)	Dentro de la corrida	
	D.S.	C.V.
22.3	1.1	4.8%
88.1	5.1	5.7%

Precisión de corrida a corrida (reductibilidad): se ensayaron dos sueros controles comerciales que fueron analizados por cinco días consecutivos (realizados por triplicado), se obtuvo la siguiente precisión: