

GOT (ASAT) IFCC mod.

Prueba liquiUV

Aspartato aminotransferasa (EC 2.6.1.1)

Presentación del estuche

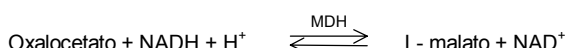
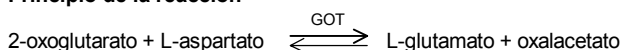
REF	12211	16 x 5 ml	Estuche M-Test completo
	12011	10 x 10 ml	Estuche completo
	12021	8 x 50 ml	Estuche completo
	12031	4 x 250 ml	Estuche completo

IVD

Método¹

Método cinético para la determinación de la actividad de ASAT de acuerdo a las recomendaciones del panel de expertos de la IFCC (Federación Internacional de Química Clínica). Sin activación por piridoxalfofosfato.

Principio de la reacción



Contenidos

REF	12211	12011	12021	12031
BUF	16 x 4 ml	10 x 8 ml	8 x 40 ml	4 x 200 ml
SUB	1 x 16 ml	2 x 10 ml	8 x 10 ml	4 x 50 ml

BUF

Buffer / reactivo enzimático

Buffer TRIS (pH 7,8)	100 mmol/l
L-aspartato	300 mmol/l
LDH	≥ 0,9 kU/l
MDH	≥ 0,6 kU/l

SUB

Substrato

2-oxoglutarato	60 mmol/l
NADH	0,9 mmol/l

Preparación de reactivos y estabilidad

Procedimiento 1, partida con substrato

Los reactivos están listos para usar.

Los reactivos son estables, aún después de abiertos, hasta su fecha de caducidad cuando se almacenan de 2...8°C protegidos de la luz. Evitar la contaminación.

Procedimiento 2, partida con muestra

REF 12031 y 12021: Poner el contenido de un frasco SUB en un frasco BUF, mezclar cuidadosamente.

REF 12211: Pipetear 1 ml del frasco SUB en un frasco BUF respectiva, mezclar cuidadosamente.

REF 12011: Pipetear 2 ml del frasco SUB en un frasco BUF respectiva, mezclar cuidadosamente.

El reactivo de trabajo es estable 4 semanas de 2...8°C y 5 días de 15...25°C.

Muestras

Suero, plasma con heparina ó EDTA.

Evitar la hemólisis !

Disminución de la actividad a los 3 días a +4°C ~ 8%,
a 20...25°C ~ 10%.

Ensayo

Longitud de onda: Hg 365 nm, 340 nm ó Hg 334 nm

Paso de luz: 1 cm

Temperatura: 25°C, 30°C o 37°C

Medición: Frente al aire (disminución de la absorbancia)

Llevar los reactivos y las cubetas a la temperatura deseada. La temperatura debe permanecer constante (± 0,5°C) durante la prueba.

Procedimiento 1 *

Pipetear en cubetas	25°C, 30°C	37°C
Muestra	200 µl	100 µl
BUF	1000 µl	1000 µl
Mezclar, incubar por 5 minutos a la temperatura deseada		
SUB	250 µl	250 µl
Mezclar, leer la absorbancia después de 1 minuto y al mismo tiempo activar el cronómetro. Leer nuevamente la absorbancia exactamente después de 1, 2 y 3 minutos.		

Procedimiento 2 *

Pipetear en las cubetas	25°C, 30°C	37°C
Muestra	200 µl	100 µl
Reactivo de trabajo	1000 µl	1000 µl
Mezclar, leer la absorbancia después de 1 minuto y al mismo tiempo activar el cronómetro. Leer nuevamente la absorbancia exactamente después de 1, 2 y 3 minutos.		

* Método semi micro; para métodos macro multiplicar volúmenes por 2.

Cálculos

Para cambios de absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{min.}$) de 0,06 a 0,08 (Hg 365 nm) ó de 0,12 a 0,16 (Hg 334 nm, 340 nm) (procedimiento 1+2) sólo emplear la medición de los 2 primeros minutos en el cálculo(1 minuto de incubación, 2 minutos de medición).

U/l = $\Delta A/\text{min} \times$	partida con muestra		partida con substrato	
Longitud de onda	25°C, 30°C	37°C	25°C, 30°C	37°C
Hg 334 nm	971	1780	1173	2184
340 nm	952	1745	1151	2143
Hg 365 nm	1765	3235	2132	3971

Factor de conversión de unidades tradicionales U/l a unidades SI, kat/l:

$$1 \text{ U/l} = 16,67 \times 10^{-3} \text{ µkat/l}$$

$$1 \text{ µkat/l} = 60 \text{ U/l}$$

Características de la ejecución

Linealidad

Si la diferencia de absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{min.}$) o la actividad excede

Longitud de onda [nm]	$\Delta A/\text{min}$	25°C, 30°C [U/l]	37°C [U/l]
Hg 365	0,080	170	320
Hg 334/340	0,160	190	350

diluir 0,1 ml de muestra con 0,9 ml de solución salina fisiológica (NaCl 0,9%) y repetir el ensayo usando esta dilución. Multiplicar el resultado por 10.

En sueros con muy alta actividad, la absorbancia inicial puede ser muy bajo dado que la mayor parte del NADH ya puede haberse consumado antes de la primera lectura. En este caso, diluir la muestra como descrito antes.

Los datos típicos de ejecución de la prueba pueden ser encontrados en el informe de verificación, accesible vía www.human.de/data/gb/vr/en-gotli.pdf ó www.human-de.com/data/gb/vr/en-gotli.pdf

Valores de referencia^{5,6}

Temperatura	25°C	30°C	37°C	IFCC*
Hombres hasta	18 U/l	25 U/l	37 U/l	35
Mujeres hasta	15 U/l	21 U/l	31 U/l	31

* con activación par piridoxalfofosfato

Control de calidad

Pueden ser empleados todos los sueros control con valores de GOT determinados por este método.

Nosotros recomendamos el uso de nuestro suero de origen animal HUMATROL ó nuestro suero de origen humano SERODOS como control de calidad.

Automatización

Proposiciones para la aplicación de los reactivos sobre analizadores están disponibles sobre demanda. Cada laboratorio tiene que validar la aplicación en su propia responsabilidad.

Notas

BUF y SUB contienen azida de sodio (0,095%). No ingerirlo. Evitar el contacto con la piel y membranas mucosas.

Literatura

1. Clin. Chim. Acta **70**, 19-42 (1976)
2. Synopsis der Leberkrankheiten: H. Wallnöfer, E. Schmidt und F.W. Schmidt, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974
3. Thefeld, W. et al.; Dtsch. med. Wschr. **99**, 343 (1974)
4. Schumann, G. et al., Clin. Chem. Lab. Med. **40**, 725-733 (2002)
5. Schumann, G., Klauke, R., Clin. Chim. Acta **327**, 69-79 (2003)
6. Fischbach, F., Zawta, B., Klin. Lab. **38**, 555-561 (1992)

EN-GOTLI
INF 1221101 E
12-2004-16



Human