

# TGO / AST

## Uso:

Para la determinación cuantitativa de la aspartato aminotransferasa (AST) en suero humano. Los reactivos se utilizan en el examen de rutina y el seguimiento de la terapia y recaídas.

## Introducción:

Suero de la aspartato aminotransferasa (TGO/AST) también conocido como suero transaminasa glutámico oxalacético (SGOT) es una enzima de tejido que cataliza el intercambio de grupos amino y ceto entre ácidos alfa-amino y los ácidos alfa-ceto. TGO/AST está ampliamente distribuido en el tejido principalmente cardíaco, hepático, renal y muscular. Lesión a estos tejidos produce la liberación de la enzima TGO/AST (SGOT) a la circulación general. Después de un infarto de miocardio, los niveles séricos de TGO/AST (SGOT) son elevados y alcanzan un pico de 48 a 60 horas después del inicio. Enfermedades hepato biliares, como la cirrosis, carcinoma metastásico, y la hepatitis viral también aumentará los niveles séricos de TGO/AST.<sup>1</sup>

El primer análisis cinético de la AST para fines de diagnóstico fue descrito por Karmen et al. en 1955, utilizando una reacción acoplada de malato deshidrogenasa (MDH) y NADH.<sup>2</sup> Este sistema de análisis se evaluó críticamente y fue optimizado en 1960 por Henry et al.<sup>3</sup> En 1977 la Federación Internacional de Química Clínica recomendó un procedimiento de referencia para la medición de actividad de AST sobre la base de los procedimientos de Karmen.<sup>4</sup> El reactivo de AST aplica la formulación recomendada por la IFCC.

## Principio:

La secuencia de reacción enzimática empleado en el ensayo de la aspartato aminotransferasa es como sigue:



AST cataliza la transferencia de un grupo amino entre el L-aspartato y 2-oxoglutarato. El oxalacetato formado en la primera reacción se hace reaccionar a continuación con NADH en presencia de malato deshidrogenasa (MDH) para formar NAD. Actividad de la AST se determina mediante la medición de la velocidad de oxidación del NADH a 340 nm. El lactato deshidrogenasa está incluido en el reactivo para convertir el piruvato endógeno de la muestra de lactato durante la fase de latencia antes de la medición.

## Composición del Reactivo:

$\alpha$ -Cetoglutarato: 16 mmol/L.  
Malato deshidrogenasa (MDH): >600 U/L.  
L-aspartato: 218 mmol/L.  
NADH: 0.18 mmol/L.

También productos químicos no reactivos para el rendimiento óptimo del sistema.

## Advertencias y Precauciones:

Los reactivos son para uso de diagnóstico in vitro. Precauciones normales en el manejo de reactivos de laboratorio deben ser seguidas. Los reactivos contienen azida de sodio que puede ser tóxico si se ingiere. La azida sódica puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre para formar azidas metálicas altamente explosivas. Consulte la Hoja de Datos de Seguridad del producto actualizada sobre riesgos, peligros o seguridad.

## Preparación del Reactivo:

El reactivo está listo para usar.

## Almacenamiento y Estabilidad del Reactivo:

El reactivo es estable hasta la fecha de vencimiento en su etiqueta, cuando es almacenado a 2-8°C y protegido de la luz. El reactivo debe ser transparente e incoloro.

## Materiales Necesarios no Incluidos:

1. Espectrofotómetro capaz de leer la absorbancia a 340 nm y 1cm de paso de luz.
2. Bloque de temperatura constante o baño, 37°C, o bien cubeta de temperatura controlada.
3. Dispositivos de pipeteado preciso.
4. Tubos de ensayo.
5. Cronómetro de intervalos.

## Recolección y Almacenamiento de la Muestra:

Suero no hemolizado es la muestra de elección, sin embargo, plasma tratado con EDTA o plasma heparinizado puede ser usado.<sup>5</sup> Siempre que sea posible, las muestras deben ser separadas y ser analizadas en el día de la recogida. Conserve el suero en tubos tapados. La enzima en el suero se reporta ser estable durante un mínimo de 7 días a 2-8°C.<sup>6</sup>

## Sustancias que Interfieren:

La hemólisis debe ser evitada ya que la concentración de TGO/AST en los glóbulos rojos es aproximadamente 10 veces mayor que la de suero.<sup>5</sup> Los niveles de bilirrubina hasta 40 mg/dl y los niveles de triglicéridos hasta 2000 mg/dl no muestran ninguna interferencia en esta prueba. Ciertos medicamentos y otras sustancias también se saben que afectan los valores de TGO/AST.<sup>7</sup>

## Procedimiento Manual:

1. Pipetear 1.0 ml de reactivo de AST en tubos etiquetados "controles", el paciente (s)", etc.
2. Pre-incubar todos los tubos a 37°C durante al menos cinco minutos.
3. Cero el espectrofotómetro a 340 nm con agua destilada.
4. Añadir 100  $\mu$ L (0.10 mL) de suero a su respectivo tubo, mezclar suavemente y gire a un termo cubeta.
5. Lea y registre la absorbancia a 1 minuto. Continuar la incubación a 37°C y anotar la absorbancia nuevamente a los 2 y 3 minutos. El cambio debe ser constante.
6. Determinar la absorbancia promedio por minuto ( $\Delta A/\text{min.}$ ), se multiplica por el factor 1768 para obtener resultados en U/L.
7. Repita el proceso para cada muestra.

**Nota:** Si la cubeta de muestras no es de temperatura controlada, incube las muestras a 37°C entre lecturas.

## Procedimiento Automatizado:

Consulte el manual del instrumento para la aplicación adecuada.

## Control de Calidad:

Se recomienda que se incluya el control en cada grupo de análisis. Material de control comercialmente disponible con los valores establecidos de TGO/AST se puede utilizar para el control de calidad. El valor asignado del material de control debe ser confirmado por la aplicación elegida. Si no se obtiene el rango apropiado de valores en el análisis del material de control puede indicar deterioro del reactivo o bien, el mal funcionamiento de instrumentos, o errores de procedimiento.

## Calibración:

Actividad de la AST se basa en el "coeficiente de extinción micromolar" de NADH a 340 nm (véase la sección "Resultados"). La guía de calibración del fabricante del instrumento se debe seguir para calibrar el analizador. Análisis de los contenidos de TGO/AST de un suero de control con valores de TGO/AST conocidos se puede utilizar para asegurar que la calibración del instrumento se ha realizado correctamente.

## Resultados:

Los valores se derivan en base al "coeficiente de extinción de absorción micromolar" de NADH a 340 nm (0.00622). Unidades por litro (U/L) de AST/GOT actividad es la cantidad de enzima que oxida un  $\mu$ mol/L de NADH por minuto.

$$\text{U/L} = \frac{\Delta A/\text{min.}}{\text{Absorbancia}} \times \frac{\text{Volumen Total}}{\text{Volumen de la muestra}}$$

$$\text{U/L} = \frac{\Delta A/\text{min.}}{0.00622} \times \frac{1.10}{0.10}$$

$$\text{U/L} = \Delta A/\text{min.} \times 1768$$

## Limitaciones:

Si el  $\Delta A/\text{min.}$  es mayor que 0.342, diluya 1 parte de muestra con 9 partes de solución salina isotónica y repita la prueba. Multiplique el resultado por 10. Valores de AST para pacientes neonatales no se han establecido con este procedimiento. Muestras muy ictericas o turbias pueden requerir el uso de un blanco de muestra.

## Valores Esperados:

Rango Normal: 8 - 33 U/L (37°C).

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de valores esperados, ya que existen diferencias entre instrumentos, laboratorios y poblaciones locales.

## Características de Rendimiento:

1. Comparación: Un grupo de 125 sueros que van en la actividad de AST de 13 a 399 U/L fue analizada por el método de TGO/AST descrito y un reactivo de AST similar disponible comercialmente. La comparación de los resultados arrojó un coeficiente de correlación de 0.999 y la ecuación de regresión fue  $y = 0.964x + 0.964$ . (Los estudios de comparación se llevaron a cabo de acuerdo a NCCLS Directriz Provisional EP9-T).
2. Precisión: la precisión dentro de la corrida fue establecida por 30 análisis en dos niveles diferentes de controles séricos comerciales. Los valores totales de precisión se obtuvieron mediante el análisis de controles comerciales durante 5 días consecutivos.

## Entre Corridos:

	Suero 1	Suero 2
Promedio (U/L)	41.7	115.2
Desviación Estándar (U/L)	0.9	3.3
CV %	2.2	2.9

## Corrida a Corrida:

	Suero 1	Suero 2
Promedio (U/L)	40.4	116.2
Desviación Estándar (U/L)	0.87	4.88
CV %	2.14	4.19

Los estudios de precisión se realizaron de acuerdo a NCCLS Directriz Provisional, EP5-T.

3. Linealidad: Lineal hasta 500 U/L a 37°C.<sup>6</sup> Realizado de acuerdo a NCCLS directriz EP6-P.
4. Sensibilidad: Basado en un instrumento de resolución de  $A = 0.001$ , el método presentado muestra una sensibilidad de 2.65 U/L.

## Referencias:

1. Henry, J.B.: Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, W.B. Saunders and Co., Philadelphia, PA, p 361 (1974).
2. Karmen A: A note on the spectrophotometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood. J Clin Invest 34:131, 1955.
3. Henry, R.J., et al.: Am. J. Clin. Path, 34:381 (1960). The Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for
4. Clinical Chemistry and Clinical Physiology. Scand. J. Clin. Lab. Invest 32:291(1974).
5. Demetriou, JA et al. In Clinical Chemistry - Principles and Techniques 2nd ed. RJ Henry et al. Eds. Harper & Row, Hagerstown MD, 1974, p 873.
6. International Federation of Clinical Chemistry. Provisional Recommendations on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentrations of Enzymes. Clin Chem 23: 887, 1977.
7. Young D.S. Effects of drugs on clinical laboratory tests. AACC Press, Washington D.C., 1990
8. Henry JB. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, 17th ed. WB Saunders Co., 1984, p 1437.

