GOT (AST). NADH. Kinetic UV. IFCC rec.Liquid
Quantitative Determination of aspartate Aminotransferase
Only for *in vitro* use in clinical laboratory
Store at 2-8ºC

Ref.:GOT-008: 5x40 + 1x50 mL
GOT-008S: 5x20 + 1x25 mL
GOT-108: 3x250 + 1x200 mL
GOT-008B: 1x250 + 1x1000 mL

GOT (AST)

CE

PRINCIPLE OF THE METHOD
Aspartate aminotransferase (AST) formerly called glutamate oxaloacetate (GOT) catalyses the reversible transfer of an amino group from aspartate to α-ketoglutarate forming glutamate and oxalacetate. The oxalacetate produced is reduced to malate by malate dehydrogenase (MDH) and NADH:

$$\text{L-Aspartate} + \alpha\text{-Ketoglutarate} \xrightarrow{\text{AST}} \text{Glutamate} + \text{Oxalacetate}$$

$$\text{Oxalacetate} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{MDH}} \text{Malate} + \text{NAD}^+$$

The rate of decrease in concentration of NADH, measured photometrically, is proportional to the catalytic concentration of AST present in the sample[1].

CLINICAL SIGNIFICANCE
The AST is a cellular enzyme, is found in highest concentration in heart muscle, the cells of the liver, the cells of the skeletal muscle and in smaller amounts in other tissues.
Although an elevated level of AST in the serum is not specific of the hepatic disease, is used mainly to diagnostic and to verify the course of this disease with other enzymes like ALT and ALP.
Also it is used to control the patients after myocardial infarction, in skeletal muscle disease and other[1,4,5].
Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

R 1 Buffer	TRIS pH 7,8	80 mmol/L
	Lactate dehydrogenase (LDH)	800 U/L
	Malate dehydrogenase (MDH)	600 U/L
	L-Aspartate	200 mmol/L
R 2 Substrate	NADH	0,18 mmol/L
	α-Ketoglutarate	12 mmol/L

PRECAUTIONS
R1: H290-May be corrosive to metals.
Follow the precautionary statements given in MSDS and label of the product.

PREPARATION
Working reagent (WR):
Mix: 4 vol. (R1) Buffer + 1 vol. (R2) Substrate

Stability: 21 days at 2-8ºC or 72 hours at room temperature (15-25ºC).

STORAGE AND STABILITY
All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8ºC, protected from light and contaminations prevented during their use.
Do not use reagents over the expiration date.

Signs of reagent deterioration:
- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 340 nm < 1,00.

ADDITIONAL EQUIPMENT
- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 340 nm.
- Thermostatic bath at 25ºC, 30ºC o 37ºC (± 0,1ºC)
- Matched cuvettes 1,0 cm light path.
- General laboratory equipment.

SAMPLES
Serum or plasma[1]: Stability 7 days at 2-8ºC.

PROCEDURE
1. Assay conditions:
   Wavelength: . . . . . 340 nm
   Cuvette: . . . . . 1 cm light path
   Constant temperature: . . . . . .25ºC /30ºC / 37ºC
2. Adjust the instrument to zero with distilled water or air.
3. Pipette into a cuvette:

WR (mL)	1,0
Sample (µL)	100

4. Mix, incubate for 1 minute.
5. Read initial absorbance (A) of the sample, start the stopwatch and read absorbances at 1 minute intervals thereafter for 3 minutes.
6. Calculate the difference between absorbances and the average absorbance differences per minute (ΔA/min).

CALCULATIONS
ΔA/min x 1750 = U/L of AST

Units: One international unit (IU) is the amount of enzyme that transforms 1 µmol of substrate per minute, in standard conditions. The concentration is expressed in units per litre of sample (U/L).

Temperature conversion factors
To correct results to other temperatures multiply by:

Assay temperature	Conversion factor to		
	25ºC	30ºC	37ºC
25ºC	1,00	1,37	2,08
30ºC	0,73	1,00	1,54
37ºC	0,48	0,65	1,00

QUALITY CONTROL
Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures.
If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and technique for problems.
Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES[1]

	25ºC	30ºC	37ºC
Men	up to 19 U/L	26 U/L	38 U/L
Women	up to 16 U/L	22 U/L	31 U/L

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS
Measuring range: From detection limit of 0 U/L to linearity limit of 467 U/L. If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/10 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 10.
Precision:

	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
Mean (U/L)	48,1	159	47,4	156
SD	0,56	0,57	1,42	4,35
CV (%)	1,16	0,36	3,00	2,79

Sensitivity: 1 U/L = 0,00053 ΔA/min.
Accuracy: Results obtained using BSM reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).
The results obtained using 50 samples were the following:
Correlation coefficient (r)[2]: 0,99956.
Regression equation: y= 1,042x - 0,342.
The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES
Anticoagulants currently in use like heparin, EDTA, oxalate and fluoride do not affect the results. Haemolysis interferes with the assay[1]
A list of drugs and other interfering substances with AST determination has been reported by Young et. al[2,3].

NOTES
BSM has instruction sheets for several automatic analyzers.

BIBLIOGRAPHY

1. Murray R. Aspartate aminotransferase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1112-116.
2. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
3. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
4. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
5. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

Bio-Science Medical S.L. C/ Velázquez,64-66, 7ºplta. 28001 MADRID (SPAIN)

GOT (AST). NADH. Cinético UV. IFCC rec. Líquido
Determinación cuantitativa de aspartato aminotransferasa
Solo para uso in vitro en el laboratorio clínico
Conservar a 2-8ºC

Ref.: GOT-008: 5x40 + 1x50 mL
GOT-008S 5x20 + 1x25 mL
GOT-108: 3x250 + 1x200 mL
GOT-008B: 1x250 + 1x1000 mL

GOT (AST)

CE

PRINCIPIO DEL MÉTODO
La aspartato aminotransferasa (AST) inicialmente llamada transaminasa glutamato oxaloacética (GOT) cataliza la transferencia reversible de un grupo amino del aspartato al α-cetoglutarato con formación de glutamato y oxalacetato. El oxalacetato producido es reducido a malato en presencia de malato deshidrogenasa (MDH) y NADH:

$$\text{L-Aspartato} + \alpha\text{-Cetoglutarato} \xrightarrow{\text{AST}} \text{Glutamato} + \text{Oxalacetato}$$

$$\text{Oxalacetato} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{MDH}} \text{Malato} + \text{NAD}^+$$

La velocidad de disminución de la concentración de NADH en el medio, determinada fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de AST en la muestra ensayada[1].

SIGNIFICADO CLÍNICO
La AST es una enzima intracelular, se encuentra en niveles altos en el músculo del corazón, las células del hígado, las células del músculo esquelético y en menores cantidades en otros tejidos.
Aunque un nivel elevado de AST en suero no es específico de enfermedad hepática se emplea principalmente para su diagnóstico y seguimiento, junto con otras enzimas como la ALT y ALP. También se emplea en el control post-infarto, en pacientes con desórdenes del músculo esquelético, y en otras afecciones[1,4,5].
El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1 Tampón	TRIS pH 7,8	80 mmol/L
	Lactato deshidrogenasa (LDH)	800 U/L
	Malato deshidrogenasa (MDH)	600 U/L
	L-Aspartato	200 mmol/L
R 2 Substrato	NADH	0,18 mmol/L
	α-Cetoglutarato	12 mmol/L

PRECAUCIONES
R1: H290-Puede ser corrosivo para los metales.
Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACIÓN
Reactivo de trabajo (RT):
Mezclar: 1 vol. de (R2) Substrato + 4 vol. (R1) Tampón.

Estabilidad: 21 días a 2-8ºC o 72 horas a temperatura ambiente.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD
Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8ºC, protegidos de la luz y se evita su contaminación.
No usar reactivos fuera de la fecha indicada.
Indicadores de deterioro de los reactivos:
- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia del Blanco a 340 < 1,00.

MATERIAL ADICIONAL
- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 340 nm.
- Baño termostatizable a 25ºC, 30ºC ó 37ºC (± 0,1ºC)
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS
Suero o plasma[1]. Estabilidad de la muestra: 7 días a 2-8ºC.

PROCEDIMIENTO
1. Condiciones del ensayo:
   Longitud de onda: . . . . . .340 nm
   Cubeta: . . . . . 1 cm paso de luz
   Temperatura constante: . . . . . 25ºC / 30ºC / 37ºC
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.
3. Pipetear en una cubeta:

RT (mL)	1,0
Muestra (µL)	100

4. Mezclar, incubar 1 minuto.
5. Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronometro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos.
6. Calcular el promedio del incremento de absorbancia por minuto (ΔA/min).

CÁLCULOS
ΔA/min x 1750 = U/L de AST

Unidades: La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1 µmol de substrato por minuto, en condiciones estándar. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).

Factores de conversión de temperaturas
Los resultados pueden transformarse a otras temperaturas multiplicando por:

Temperatura de medición	Factor para convertir a		
	25ºC	30ºC	37ºC
25ºC	1,00	1,37	2,08
30ºC	0,73	1,00	1,54
37ºC	0,48	0,65	1,00

CONTROL DE CALIDAD
Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados.
Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica.
Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA[1]

	25ºC	30ºC	37ºC
Hombres	Hasta 19 U/L	26 U/L	38 U/L
Mujeres	Hasta 16 U/L	22 U/L	31 U/L

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO
Rango de medida: Desde el límite de detección 0 U/L hasta el límite de linealidad 467 U/L.
Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/10 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 10.
Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (U/L)	48,1	159	47,4	156
SD	0,56	0,57	1,42	4,35
CV (%)	1,16	0,36	3,00	2,79

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,00053 ΔA/min.
Exactitud: Los reactivos BSM (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).
Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:
Coeficiente de regresión $(r)^2$: 0 ,99956.
Ecuación de la recta de regresión: y= 1,042x - 0,342.
Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS
Los anticoagulantes de uso corriente como la heparina, EDTA oxalato o fluoruro no afectan los resultados. La hemólisis interfiere con la determinación[1].
Se han descrito varias drogas y otras substancias que interfieren en la determinación de la AST[2,3].

NOTAS
BSM dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

1. Murray R. Aspartate aminotransferase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1112-116.
2. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
3. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
4. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
5. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

Bio-Science Medical S.L. C/ Velázquez,64-66, 7ºplta, 28001 MADRID (SPAIN)