

IMPORTANCIA CLINICA

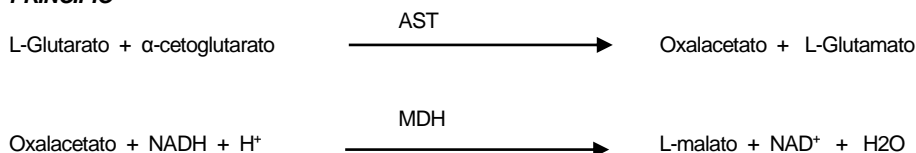
El AST está comúnmente distribuido en tejidos, con las concentraciones más altas en el hígado, corazón, músculo esquelético y riñones. Enfermedades que involucren a estos tejidos pueden ocasionar niveles elevados de AST en suero. Después de un infarto al miocardio los niveles de AST se elevan hasta por 48-60 horas.

Enfermedades hepato biliares tales como la cirrosis, carcinoma metastático y hepatitis viral pueden ocasionar elevación en los niveles de AST. Otros desordenes que pueden llevar a estos niveles son distrofia muscular, dermatomiositis, pancreatitis aguda, y mononucleosis infecciosa.

HISTORIA DEL METODO

En 1955 Karmen desarrolló un método cinético basado en el uso de malato deshidrogenasa y NADH. Henry en 1960 y Amador y Walker en 1962 optimizaron el método. Estas modificaciones incrementaron la efectividad y redujeron el efecto de sustancias que interfieren. El Comité en enzimas de la Sociedad Escandinava para la Química Clínica y Química Fisiológica publicaron un método recomendado basado en modificaciones optimizadas en 1974. En 1976 el Panel Experto en Enzimas de la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC) propuso la adición de piridoxal-5-fosfato a la reacción para asegurar un máximo de efectividad. La IFCC publicó un método recomendado que incluía P-5-P en 1978. El método presente está basado en las recomendaciones de la IFCC pero no contiene P-5-P desde que más especímenes contienen la cantidad adecuada de este cofactor para un total rescate de la actividad de AST.

PRINCIPIO



La AST cataliza la transferencia del grupo amino de L-aspartato a α -cetoglutarato para producir axalaceteato y L-glutamato. El oxalacetato sufre una reducción con una simultánea oxidación de NADH a NAD siendo la malato deshidrogenasa (MDH) el catalizador de la reacción. La razón resultante del decremento en absorbancia a 340 nm es directamente proporcional a la actividad de AST. La LDH se añade para prevenir interferencia de piruvato endógeno el cuál está normalmente en suero.

REACTIVOS

Después de combinar R1 y R2 el reactivo contiene: ácido L-aspártico 240 mM; ácido α -cetoglútrico 12 mM; LDH (microbial) > 1000 U/L; MDH (microbial) > 800 U/L; NADH 0.18 mM; Buffer 80 mM, pH 7.7 - 7.9; Azida de sodio 0.01 %; estabilizadores.

Los reactivos están listos para usarse en sistemas capaces de manejar 2 reactivos.

Si se requiere un solo reactivo, mezcle 5 partes de R1 y 1 parte de R2.

Los reactivos por separado son estables hasta su fecha de caducidad si se guardan a 2-8 °C.

El reactivo de trabajo es estable 48 horas a temperatura ambiente, y 14 días a refrigeración.

El reactivo no debe usarse si está turbio, o si los resultados no coinciden con los parámetros de la prueba.

INTERFERENCIAS

1. Algunas drogas y sustancias afectan la actividad de AST.
2. Pacientes con severas deficiencias de vitamina B6 pueden tener un decremento da AST, presumiblemente debido a una carencia de piridoxal fosfato.
3. Se ha encontrado que bilirubinas de por lo menos 18 mg /dL y hemoglobinas de por lo menos 300 mg/dL tienen un efecto insignificante en este método.

MATERIAL

Reactivos R1 Y R2 de AST

MATERIAL REQUERIDO, NO SUMINISTRADO

Pipetas automatizadas
Cronómetro
Tubos de ensayo
Espectrofotómetro con capacidad de leer a 340 nm
Bloque térmico

PROCEDIMIENTO (AUTOMATIZADO GENERAL)

Longitud de onda	340 nm
Tipo de ensayo	cinético
Razón muestra/ reactivo	1:11
Dirección de la reacción	decremento
Temperatura	37°C
Tiempo lag	60 segundos
Tiempo de lectura	60 segundos
Valor normal bajo	5 U/L
Valor normal alto	34 U/L

PROCEDIMIENTO (MANUAL)

1. Prepare el reactivo de acuerdo al instructivo
2. Pipetee 1 mL de reactivo de trabajo en cada tubo.
3. Pre-caliente por lo menos 5 minutos a 37 °C.
4. Agregue 100 µL de suero a los tubos respectivos y mezcle. Incube todos los tubos a 37 °C por 1 minuto.
5. Después de un minuto lea y anote la absorbancia a 340 nm contra blanco de agua. Vuelva a hacer lecturas a los 60 y 120 segundos.
6. Calcule la diferencia de absorbancias absorbancia / minuto. Esta diferencia se multiplica por el factor 1768 y así se obtiene el resultado en U/L.

NOTAS

Muestras altamente ictericas o turbias pueden dar lecturas en las cuáles la absorbancia inicial excede la capacidad del espectrofotómetro. Se pueden obtener mejores resultados usando 50 µL de suero y multiplicando el resultado final por 2.

CALIBRACIÓN

El procedimiento está estandarizado por la media de la absortividad de NADH tomada como 6.22 a 340 nm bajo las condiciones de prueba descritas.

CALCULOS

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

$$\text{AST (UI/L)} = \frac{\Delta \text{Abs/min} * 1.10 * 1000}{6.22 * 0.10 * 1.0} = \Delta \text{Abs/min} * 1768$$

donde :

Δ Abs/min =	cambio de absorbancia por minuto
1000 =	conversión UI/mL a UI/L
1.10 =	volumen total de reacción (mL)
6.22 =	absortividad molar de NADH
0.10 =	volumen de muestra (mL)
1.0 =	paso de luz en cm

CONTROL DE CALIDAD

Se debe correr rutinariamente sueros control normal y anormal con concentraciones conocidas para monitorear la validez de la reacción. Estos controles se deben correr por lo menos cada vez que se vayan a procesar determinaciones de AST. Se recomienda que cada laboratorio tenga su propia frecuencia de determinación de control.

VALORES ESPERADOS

8-22 UI/L (30°C)

5-34 UI/L (37°C)

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

LINEARIDAD

0-500 UI/L

FABRICADO POR:

POINTE SCIENTIFIC, INC.
E.E.U.U.
