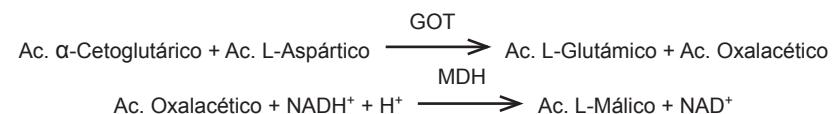


GOT / AST UV LIQUIDA

METODO IFCC

Para la determinación "in vitro" de la Transaminasa GOT/AST en suero o plasma

Principio



Reactivos

Kit 1 x 50 ml. (Ref. 99 80 03). Contiene:

A. 1 x 40 ml. Disolución de enzimas.
B. 1 x 10 ml. Sustrato líquido.

Ref. 99 61 07
Ref. 99 22 00

Kit 1 x 250 ml. (Ref. 99 95 00). Contiene:

A. 2 x 100 ml. Disolución de enzimas.
B. 1 x 50 ml. Sustrato líquido.

Ref. 99 95 20
Ref. 99 21 65

Kit 1 x 940 ml. (Ref. 99 04 06). Contiene:

A. 3 x 250 ml. Disolución de enzimas.
B. 1 x 190 ml. Sustrato líquido.

Ref. 99 04 02
Ref. 99 04 11

Reactivos de trabajo

Los reactivos A y B, están listos para su uso. En caso de que se quiera trabajar como **Monoreactivo**: mezclar las cantidades deseadas, pero manteniendo la proporción 4 partes de A (Disol. de enzimas) + 1 parte de B (Sustrato líquido).

Las concentraciones en la disolución reactiva son:

Tampón Tris-HCl pH 7,8	80 mM
Ac. L-Aspártico	240 mM
Ac. α -Cetoglúrico	12 mM
NADH	0,18 mM
MDH	≥ 600 U/L
LDH	≥ 800 U/L
Estabilizantes y conservantes	

Conservación y estabilidad

Los componentes del kit almacenados en refrigerador a 2-8° C, son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Una vez mezclados los componentes A y B, dicha disolución monorreactiva es estable 5 semanas mantenida a 2-8° C y 1 semana a temperatura ambiente ($\leq 25^\circ\text{C}$), siempre al abrigo de la luz.

Muestra

Suero o plasma con heparina o EDTA como anticoagulante. Utilizar muestras exentas de hemólisis. Los sueros mantenidos en refrigerador a 2-8° C, pierden aproximadamente el 10% de actividad a los 3 días.

Precaución

Contiene azida sódica (0,09 %) como conservante.

Manipular con precaución. La eliminación de residuos debe hacerse según la normativa legal vigente.

Técnica Monorreactivo	25/30° C	37° C
R. de trabajo	ml	ml
Muestra	0,2	0,1
Mezclar y poner en marcha el cronómetro. Transferir a la cubeta de lectura y leer las absorbancias después de 1, 2, 3 min.		
Técnica Birreactivo	25/30° C	37° C
Disol. enzimas (A)	1,0	1,0
Muestra	0,2	0,1
Mezclar e incubar aprox. 1 min. Añadir: Sustrato (B) 0,25 0,25 Mezclar y poner en marcha el cronómetro. Transferir a la cubeta de lectura y leer las absorbancias después de 1, 2, 3 min.		

Lectura		
Longitud onda: Hg334 nm; 340 nm; Hg365 nm.		
Blanco: Agua.		
Cubeta termostatizada: 1 cm paso de luz.		
Cálculos		
Determinar la $\Delta E/\text{min}$. obtenida en cada lectura y hallar el valor medio. Las U/L se obtienen a partir de:		
Técnica Monorreactivo		
25/30° C 37° C		
334 nm ($\Delta E/\text{min}$).x 970=U/L	($\Delta E/\text{min}$).x 1780=U/L	
340 nm ($\Delta E/\text{min}$).x 950=U/L	($\Delta E/\text{min}$).x 1745=U/L	
365 nm ($\Delta E/\text{min}$).x 1765=U/L	($\Delta E/\text{min}$).x 3235=U/L	
Técnica Birreactivo		
25/30° C 37° C		
334 nm ($\Delta E/\text{min}$).x 1175=U/L	($\Delta E/\text{min}$).x 2185=U/L	
340 nm ($\Delta E/\text{min}$).x 1150=U/L	($\Delta E/\text{min}$).x 2140=U/L	
365 nm ($\Delta E/\text{min}$).x 2130=U/L	($\Delta E/\text{min}$).x 3970=U/L	
Valores Normales		
Temperatura	Hombres	Mujeres
25 °C	≤ 18 U/L	≤ 15 U/L
30 °C	≤ 25 U/L	≤ 21 U/L
37 °C	≤ 37 U/L	≤ 31 U/L

El método que aquí se describe es el propuesto por la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC).

Prestaciones. Características de funcionamiento.

Linealidad: Hasta $\Delta E/\text{min}$. de 0,160 (a 340, 334 nm) ó de 0,080 (a 365 nm). Para valores superiores se aconseja diluir la muestra 1/10 con salina (NaCl 0,9%) y repetir el ensayo. Multiplicar el resultado por 10.

Las características de funcionamiento del producto dependen tanto del reactivo como del sistema de lectura manual o automático empleados. Los siguientes datos se han obtenido de forma manual:

Coeficiente de Variación en la serie: 1,72%

Coeficiente de Variación entre series: 2,42%

Exactitud: 97,9 de porcentaje de recuperación.

Las muestras muy activas pueden dar lugar a una reacción muy rápida con extinciones iniciales bajas, al ser consumido el NADH en el primer minuto de reacción. En este caso se deberá diluir la muestra 1/10 con salina (NaCl 0,9%), y repetir el ensayo. Multiplicar el resultado por 10.

Control de calidad

Seriscann Normal (Ref. 99 41 48) y Seriscann Anormal (Ref. 99 46 85).

Autoanalizadores

Adaptaciones a distintos analizadores automáticos, disponibles bajo demanda.

Bibliografía

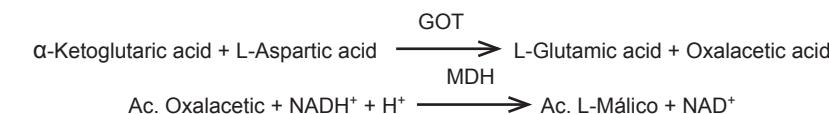
Bergmeyer, H.U., Scheibe, P., Wahlefeld, A.W. (1978). Clin. Chem., 24, 58 - 73.
IFCC, (2002), Clin. Chem. Lab. Met., 40, 631-634.
Bergmeyer, H.U., y cols. (1986). J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 24, 497.
Isherwood, D., (1979), Med. Lab. Sci., 36, 211-235.

GOT / AST UV LIQUID

IFCC METHOD

For "in vitro" determination of Transaminase GOT/AST in serum or plasma

Principle



Reagents

Kit 1 x 50 ml. (Ref. 99 80 03). Contents:

A. 1 x 40 ml. Enzymes solution.
B. 1 x 10 ml. Liquid substrate.

Ref. 99 61 07
Ref. 99 22 00

Kit 1 x250 ml. (Ref. 99 95 00). Contents:

A. 2 x 100 ml. Enzymes solution.
B. 1 x 50 ml. Liquid substrate.

Ref. 99 95 20
Ref. 99 21 65

Kit 1 x 940 ml. (Ref. 99 04 06). Contents:

A. 3 x 250 ml. Enzymes solution.
B. 1 x 190 ml. Liquid substrate.

Ref. 99 04 02
Ref. 99 04 11

Working reagent

Reagents A and B are ready-to-use. If a **Monoreagent** procedure is preferred, then the reagents must be mixed in the ratio: 4 parts of A (Enzymes solution) + 1 part of B (Liquid substrate).

The concentrations in the reagent solution are:

Tris-HCl buffer pH 7.8	80 mM
L-Aspartic acid	240 mM
α -Ketoglutaric acid	12 mM
NADH	0.18 mM
MDH	≥ 600 U/L
LDH	≥ 800 U/L
Stabilizers and preservatives	

Storage and stability

The components of the kit, stored at 2-8°C, will remain stable until the expiration date stated on the label. The Monoreagent is stable for 5 weeks at 2-8°C and for 1 week at room temperature ($\leq 25^\circ\text{C}$), when protected from the sunlight.

Sample

Serum or plasma with EDTA or heparin. Samples free from hemolysis should be used. Sera kept in the refrigerator at 2-8°C loses ca. 10% of its activity after 3 days.

Caution

Contains sodium azide (0,09 %) as preservative. Handle with care. The disposal of the residues has to be made according to legal local regulations.

Monoreagent procedure	25/30° C	37° C
Working reagent	ml	ml
Sample	0.2	0.1
Mix, read the absorbance after 1 min. and start the stopwatch. Read again the absorbance after 1, 2 and 3 min.		
Bireagent procedure	25/30° C	37° C
Enzymes sol. (A)	1.0	1.0
Sample	0.2	0.1
Mix, incubate for approx. 1 minute and then add: Substrate (B) 0.25 0.25		
Mix, read the absorbance after 1 min. and start the stopwatch. Read again the absorbance after 1, 2 and 3 min.		



Reading
Wavelength: Hg 334 nm; 340 nm; Hg 365 nm.
Blank: Water.
Cuvette: Thermostatized, 1 cm light-path.

Calculations
Determine the $\Delta E/\text{min}$. for every reading and find the mean value. Calculate the U/L from:

Monoreagent procedure
25/30° C 37° C
334 nm ($\Delta E/\text{min}$).x 970=U/L ($\Delta E/\text{min}$).x 1780=U/L
340 nm ($\Delta E/\text{min}$).x 950

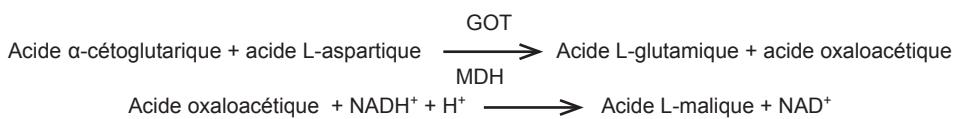
GOT/AST UV LIQUIDE

MÉTHODE IFCC

Pour la détermination in vitro de la transaminase GOT/AST dans le sérum ou le plasma



Principe



Réactifs

Kit 1 x 50 ml (Réf. 99 80 03). Contenu:

- A. 1 x 40 ml Solution d'enzymes.
- B. 1 x 10 ml Substrat liquide.

Réf. 99 61 07
Réf. 99 22 00

Kit 1 x 250 ml (Réf. 99 95 00). Contenu:

- A. 2 x 100 ml Solution d'enzymes.
- B. 1 x 50 ml Substrat liquide.

Réf. 99 95 20
Réf. 99 21 65

Kit 1 x 940 ml (Réf. 99 04 06). Contenu:

- A. 3 x 250 ml Solution d'enzymes.
- B. 1 x 190 ml Substrat liquide.

Réf. 99 04 02
Réf. 99 04 11

Réactif de travail

Les réactifs A et B sont prêts à l'emploi. En cas d'utilisation de la technique en mode Monoréactif: mélanger les quantités souhaitées, mais en maintenant la proportion 4 volumes de A (solution d'enzymes) + 1 volume de B (substrat liquide).

Les concentrations dans la solution réactive sont les suivantes:

Tampon Tris-HCl pH 7,8	80 mM
Acide L-aspartique	240 mM
Acide α -cétoglutarique	12 mM
NADH	0,18 mM
MDH	≥ 600 U/l
LDH	≥ 800 U/l
Stabilisants et conservateurs	

Conservation et stabilité

Conservés au réfrigérateur entre 2 et 8 °C, les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Une fois les composants A et B mélangés, cette solution monoréactive est stable pendant 5 semaines entre 2 et 8 °C et 1 semaine à température ambiante (≤ 25 °C), toujours à l'abri de la lumière.

Échantillon

Sérum ou plasma hépariné ou sur EDTA comme anticoagulant. Utiliser des échantillons exempts d'hémolyse.
Les sérum conservés au réfrigérateur entre 2 et 8 °C perdent environ 10 % d'activité au bout de 3 jours.

Précautions d'emploi

Contient de l'azide de sodium (0,09 %) comme conservateur.
Manipuler avec précaution. L'élimination des déchets doit être effectuée conformément aux normes en vigueur.

Lecture

Longueur d'onde: Hg 334 nm, 340 nm et 365 nm
Blanc: eau
Cuvette thermostatisée: de 1 cm de trajet optique.

Calculs

Déterminer la valeur $\Delta E/\text{min}$ obtenue à chaque lecture ainsi que la valeur moyenne. Les U/l sont calculées à partir de:

Technique Mode Monoréactif

25/30° C	37° C
334 nm $(\Delta E/\text{min.}) \times 970 = \text{U/L}$	$(\Delta E/\text{min.}) \times 1780 = \text{U/L}$
340 nm $(\Delta E/\text{min.}) \times 950 = \text{U/L}$	$(\Delta E/\text{min.}) \times 1745 = \text{U/L}$
365 nm $(\Delta E/\text{min.}) \times 1765 = \text{U/L}$	$(\Delta E/\text{min.}) \times 3235 = \text{U/L}$

Technique Mode Biréactif

25/30° C	37° C
334 nm $(\Delta E/\text{min.}) \times 1175 = \text{U/L}$	$(\Delta E/\text{min.}) \times 2185 = \text{U/L}$
340 nm $(\Delta E/\text{min.}) \times 1150 = \text{U/L}$	$(\Delta E/\text{min.}) \times 2140 = \text{U/L}$
365 nm $(\Delta E/\text{min.}) \times 2130 = \text{U/L}$	$(\Delta E/\text{min.}) \times 3970 = \text{U/L}$

Valeurs normales

Température	Hommes	Femmes
25 °C	≤ 18 U/l	≤ 15 U/l
30 °C	≤ 25 U/l	≤ 21 U/l
37 °C	≤ 37 U/l	≤ 31 U/l

La méthode décrite ici est celle proposée par la Fédération internationale de chimie clinique (IFCC).

Fonctionnement et caractéristiques de performance du dispositif.

Linéarité: jusqu'à la valeur $\Delta E/\text{min}$ de 0,160 (à 340 et 334 nm) ou de 0,080 (à 365 nm). Pour des valeurs supérieures, il est conseillé de diluer l'échantillon au 1/10 avec une solution saline (NaCl 0,9%) et de répéter l'essai. Multiplier le résultat par 10.

Le fonctionnement du produit dépend tant du réactif que du système de lecture manuel ou automatique utilisé. Une technique manuelle a permis d'obtenir les données suivantes:

Coefficient de variation dans la série: 1,72 %

Coefficient de variation entre les séries: 2,42 %

Exactitude: le pourcentage de récupération est de 97,9 %.

Les échantillons à très forte activité peuvent produire une réaction très rapide avec des extinctions initiales basses, car le NADH est consommé pendant la première minute de la réaction. Dans ce cas, diluer l'échantillon au 1/10 avec une solution saline (NaCl 0,9%) et répéter l'essai. Multiplier le résultat par 10.

Contrôle de qualité

Seriscann normal (Réf. 99 41 48) et Seriscann anormal (Réf. 99 46 85).

Analyseurs automatiques

Des adaptations à différents analyseurs automatiques sont disponibles sur demande.

Bibliographie

Bergmeyer, H.U., Scheibe, P., Wahlefeld, A.W. (1978). Clin. Chem., 24, 58 - 73.

IFCC, (2002), Clin. Chem. Lab. Met., 40, 631-634.

Bergmeyer, H.U., et coll. (1986). J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 24, 497.

Isherwood, D., (1979), Med. Lab. Sci., 36, 211-235.

Technique Monoréactif	25/30 °C	37 °C
	ml	ml
R. de travail	1,0	1,0
Échantillon	0,2	0,1
Mélanger puis mettre en marche le chronomètre. Transférer à la cuvette de lecture puis lire les absorbances toutes les minutes pendant 3 minutes.		
Technique Biréactif	25/30 °C	37 °C
Solution d'enzymes (A)	1,0	1,0
Échantillon	0,2	0,1
Mélanger et incuber pendant environ 1 minute. Ajouter: Substrat (B) 0,25 0,25 Mélanger puis mettre en marche le chronomètre. Transférer à la cuvette de lecture puis lire les absorbances toutes les minutes pendant 3 minutes.		

