

AST - PP

Kit para determinação da aspartato aminotransferase (AST) por metodologia cinética-UV.

REF. 421

MS 80022230083



Analisa

MÉTODO

Cinético - UV

FINALIDADE

Reagentes para determinação quantitativa da atividade da aspartato aminotransferase (AST) ou transaminase glutâmico oxalacética (GOT ou TGO) no soro ou plasma. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO

A AST catalisa a transferência do grupo amina do aspartato para o cetoglutarato com formação de glutamato e oxalacetato. O oxalacetato é reduzido a malato por ação da malato desidrogenase (MDH), enquanto que a coenzima NADH é oxidada a NAD⁺. A atividade enzimática da AST na amostra é calculada com base na redução da absorbância em 340 nm, quando o NADH se transforma em NAD⁺.



SIGNIFICADO CLÍNICO

A aspartato aminotransferase (AST) é uma enzima encontrada em concentração muito alta no músculo cardíaco, no fígado, músculos esqueléticos e em menor concentração nos rins e pâncreas. Nas células hepáticas, a AST localiza-se no citoplasma (40%) e na mitocôndria (60%). Qualquer lesão tissular ou doença afetando o parênquima hepático liberará uma maior quantidade da enzima para a corrente sanguínea, elevando os níveis séricos da AST. Sempre que ocorrer uma lesão hepatocelular de qualquer etiologia haverá uma grande liberação da enzima AST para a corrente sanguínea, elevando seus níveis séricos. Na hepatite virótica aguda, os níveis de AST encontram-se quase sempre elevados em mais de 10 vezes o limite superior da faixa de referência e em alguns casos ultrapassam a 20 vezes esse limite superior de normalidade. Entretanto, dentro de uma a duas semanas, os valores de AST diminuem bastante podendo cair para a faixa normal ou apresentar ligeiro aumento. Nos casos de obstrução extra-hepática, as elevações de AST não são comuns, mas podem ocorrer quando há lesão parenquimatosa secundária aguda.

Na cirrose, as alterações da AST e seus respectivos níveis vão depender da ocorrência e do grau de lesão hepatocelular ativa presente. Geralmente, na cirrose inativa os valores de AST não se alteram. Na cirrose alcoólica ativa, os valores de AST se elevam moderadamente. Na hepatite virótica crônica ativa, os níveis de AST também encontram-se elevados moderadamente. Várias doenças comuns apresentam elevação pequena ou moderada de AST, e entre elas podemos citar: mononucleose infecciosa, hepatite aguda na fase de remissão ou recuperação, hepatite crônica, disfunção hepática induzida por drogas, tumor hepático metastático, congestão hepática passiva, cirrose ativa ou hepatopatia alcoólica, obstrução extra-hepática prolongada do ducto biliar, fígado gorduroso e citomegalovirus.

Na maioria das vezes, a dosagem de AST é realizada juntamente com a ALT e a relação AST/ALT pode ser determinada para auxiliar no diagnóstico diferencial das doenças. Assim, a relação AST/ALT é sempre maior do que 1 em pacientes com cirrose alcoólica, hepatites crônicas, congestão hepática e tumor com metástase do fígado. Geralmente, essa relação é menor do que 1 nos casos de hepatite virótica aguda e mononucleose infecciosa.

Nos casos de lesão do miocárdio, a AST juntamente com a dosagem da creatina quinase (CK) e da desidrogenase láctica (LDH) é muito útil para o diagnóstico e acompanhamento do infarto do miocárdio (IM).

QUALIFICAÇÕES DO PRODUTO

- Metodologia cinética contínua em ultravioleta facilmente adaptável em analisadores automáticos e semi-automáticos.
- O produto emprega reagentes líquidos, possibilitando o preparo do volume de Reagente de Trabalho de acordo com a demanda do laboratório.
- A metodologia permite obter resultados exatos e precisos se for executada conforme descrita nesta Instrução de Uso.

IDENTIFICAÇÃO DOS REAGENTES

Conservar entre 2-8 °C

1. **Tampão** - Contém tampão Tris 121 mmol/L, L-aspartato 362 mmol/L, MDH 460 U/L, LDH 660 U/L e azida sódica 14,6 mmol/L.
2. **Coenzima** - Contém 2-cetoglutarato 75 mmol/L, NADH 1,3 mmol/L e azida sódica 14,6 mmol/L.

ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até o vencimento da data de validade impressa no rótulo do produto e na caixa quando conservados na temperatura recomendada, bem vedados e se evite a contaminação durante o uso.

Sinais de Deterioração dos Reagentes

1. Presença de partículas e turbidez indicam deterioração dos reagentes.
2. A absorbância do Reagente de Trabalho lida contra a água em 340 nm deverá ser superior a 1,0 durante toda a sua utilização ou até a expiração da data de validade do mesmo.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro UV com cubeta termostatizada;
- Tubos e pipetas;
- Cronômetro.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes e amostra biológica.
- Os reagentes contêm azida sódica como conservante. Evitar contato com os olhos, pele e mucosa. Não aspirar ou ingerir.
- Recomendamos o uso das Boas Práticas em Laboratório Clínico para a execução do teste.
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes.
- Os reagentes contêm azida sódica como conservante. Evitar contato com os olhos, pele e mucosa. Não aspirar ou ingerir.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.

AMOSTRA

SORO ou PLASMA (EDTA ou heparina).

O analito é estável por 7 dias entre 2-8 °C. Não utilizar amostras hemolisadas.

Nota: Recomendamos que a coleta, preparação, armazenamento e descarte das amostras biológicas sejam realizadas seguindo as recomendações das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Enfatizamos que os erros provenientes da amostra podem ser muito maiores do que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

INFLUÊNCIAS PRÉ-ANALÍTICAS

A atividade enzimática da AST está aumentada no alcoolismo crônico.

O uso de esteróides anabolizantes, clorotiazida, clorfenicol, uso prolongado de aspirina, gentamicina e algumas outras drogas podem elevar a atividade da AST.

INTERFERÊNCIAS

A bilirrubina até 19 mg/dL, lipemia (triglicérides até 650 mg/dL) e hemólise (hemoglobina até 45 mg/dL) não produzem interferências significativas.

Amostra hemolisada com hemoglobina acima de 45 mg/dL produz interferência positiva significativa.

Amostras fortemente lipêmicas e ictericas apresentam absorbância elevada em 340 nm. Quando a atividade enzimática nessas amostras estiver muito aumentada pode ocorrer consumo muito rápido do substrato sem ocorrer uma diminuição significativa da absorbância. Portanto, quando for obtido valores baixos de AST nessas amostras, repetir a dosagem diluindo o soro com solução de NaCl 150 mmol/L (0,85%).

PROCEDIMENTO DO TESTE

A Condições de Reação

Leitura: Comprimento de onda 340 nm

Temperatura: 37°C

Tipo de Reação: Cinética contínua decrescente

Preparo do Reagente de Trabalho

De acordo com o consumo, misturar suavemente os reagentes 1 e 2 na seguinte proporção: 4 volumes de Tampão (1) mais 1 volume de Coenzima (2).

O Reagente de Trabalho é estável por 10 dias entre 2-8°C.

B. Técnica de Análise sem Calibrador

1. Pipetar na cubeta ou tubo:

| | |
|----------------------|---------|
| Reagente de Trabalho | 1000 µL |
| Amostra | 100 µL |

2. Homogeneizar, inserir a cubeta no porta-cubetas termostatizado a 37 °C e acionar o cronômetro.
3. Após 1 minuto, fazer a leitura da absorbância inicial (A₀).
4. Fazer novas leituras de absorbância, após exatamente 1, 2 e 3 minutos.
5. As diferenças entre as absorbâncias devem ser praticamente iguais, indicando a linearidade do método.
6. Calcular o decréscimo de absorbância médio por minuto (ΔA/minuto médio).

Atenção: Uma absorbância inicial inferior a 0,800 indica que a amostra tem uma atividade enzimática de AST alta. Neste caso, diluir a amostra e repetir o ensaio.

Cálculos

Ver Linearidade.

Considerando que o coeficiente de absorção milimolar do NADH em 340 nm é 6,3, deduz-se a seguinte fórmula para calcular a concentração catalítica:

U/L de AST(GOT) em 340 nm = ΔA/minuto médio x 1746

Onde: ΔA/min médio = Variação média da absorbância por minuto.

O fator 1746 é calculado com base nas condições da reação cinética contínua. Esse fator deve ser recalculado sempre que se fizer qualquer modificação nos parâmetros da reação.

Ver método para cálculo do fator.

Exemplo

Se ΔA/minuto do teste = 0,0285

Atividade AST em U/L = ΔA teste X 1746

Atividade AST = 0,0285 X 1746 = 50 U/L

Cálculo do Fator

Fator = $(Vt \times 1000) \div (\epsilon \times Va \times d)$

Vt = volume total do ensaio = 1100 µL

Va = volume da amostra = 100 µL

1000 = conversão de U/mL para U/L

d = espessura da cubeta, via da luz = 1 cm

ε = Absortividade milimolar do NADH em 340nm = 6,3

Fator = $(1100 \times 1000) \div (6,3 \times 100 \times 1) = 1746$

C. Técnica de Análise com Calibrador Cat. 410 da Gold Analisa.

1. Pipetar na cubeta ou tubo:

| | |
|-----------------------|---------|
| Reagente de Trabalho | 1000 µL |
| Amostra ou Calibrador | 100 µL |

2. Homogeneizar, inserir a cubeta no porta-cubetas termostatizado a 37 °C e acionar o cronômetro.

3. Após 1 minuto, fazer a leitura da absorbância inicial (A₀).

4. Fazer novas leituras de absorbância, após exatamente 1, 2 e 3 minutos.

5. As diferenças entre as absorbâncias (ΔA/minuto) devem ser praticamente iguais, indicando a linearidade do método.

6. Calcular o decréscimo médio de absorbância por minuto do Calibrador e do Teste (ΔA/minuto médio).

Notas

1. Utilizar o Calibrador - Cat. 410 da Gold Analisa.

Ver Instruções de Uso e valor tabelado para AST.

2. O desempenho do Calibrador pode ser afetado por vários fatores como: erros de reconstituição, de homogeneização, armazenamento incorreto, contaminação da água ou vidraria.

3. Uma absorbância inicial inferior a 0,800 indica que a amostra tem uma atividade enzimática de AST alta. Neste caso, diluir a amostra e repetir o ensaio.

Cálculos

Ver Linearidade.

Como a metodologia obedece a lei de Lambert-Beer, pode-se efetuar os cálculos através do Fator de Calibração (FC).

ΔA/minuto médio = Variação média da absorbância por minuto.

AC = Atividade de AST do Calibrador = x U/L (Ver valor de AST na tabela do Calibrador)

AT = Atividade de AST do Teste em U/L = ΔA/minuto do Teste x FC

FC = Fator de Calibração = AC ÷ ΔA/minuto médio do Calibrador

Exemplo

Se ΔA/minuto médio do Calibrador = 0,064

Se ΔA/minuto médio do Teste = 0,022

Se AC = 112 U/L (Valor indicado na tabela do Calibrador)

FC = AC ÷ ΔA/minuto médio do Calibrador = 112 ÷ 0,064 = 1750

AT = Atividade de AST do Teste em U/L = 0,022 x FC = 0,022 x 1750 = 38 U/L

Atenção

As técnicas apresentadas são adequadas para fotômetros cujo volume mínimo de solução para leitura é igual ou menor que 1000 µL.

O analista sempre deve fazer uma verificação da necessidade de ajuste do volume para o fotômetro empregado no seu laboratório.

Os volumes de amostra e de reagente podem ser modificados proporcionalmente, sem alterar o desempenho do teste e os cálculos.

Em caso de redução dos volumes é necessário observar o volume mínimo de leitura fotométrica.

Volumes da amostra menores do que 10 µL são críticos em aplicações manuais e devem ser usados com cautela porque aumentam a imprecisão da medição.

Conversão de Unidades

Unidade convencional (U/L) x 16,7 = Unidade SI (nKat/L)

VALORES DE REFERÊNCIA (37 °C)

Homens: 11 - 39 U/L

Mulheres: 10 - 37 U/L

Estes valores devem ser usados como uma orientação. É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

AUTOMAÇÃO

Este kit pode ser utilizado na maioria dos analisadores automáticos.

O consumidor poderá solicitar mais informações através do Setor de Apoio ao Cliente (SAC) ou acessando o site www.goldanalisa.com.br

CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório clínico deve manter um Programa de Garantia da Qualidade para assegurar que todos os procedimentos laboratoriais sejam realizados de acordo com as Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Para controle e verificação do desempenho do kit usar Soro Controle N e Soro Controle P da Gold Analisa.

É importante que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores médios e os respectivos limites de variação.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

Linearidade

A reação é linear até 400 U/L. Para valores maiores, diluir a amostra com solução de NaCl 150 mmol/L (0,85%) e realizar uma nova determinação. Multiplicar o valor obtido pelo fator de diluição empregado.

Repetitividade

A imprecisão intra-ensaio foi calculada com 20 determinações sucessivas de AST utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes.

As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 1,4 e 1,5%.

Reprodutibilidade

A imprecisão inter-ensaio foi calculada com 20 determinações de AST em dias diferentes utilizando 2 amostras de soro com concentrações diferentes.

As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 5,9 e 3,8%.

OBSERVAÇÕES

1. A observação minuciosa da limpeza e secagem da vidraria, da estabilidade dos reagentes, da pipetagem, da temperatura e do tempo de reação é de extrema importância para se obter resultados precisos e exatos.

2. Na limpeza da vidraria pode-se empregar um detergente neutro ou uma solução ácida. A última lavagem deve ser feita com água destilada ou deionizada.

3. A água utilizada nos laboratórios clínicos deve ser purificada utilizando-se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, amins e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bergmeyer HU, Scheibe P, Wahlefeld AW. Clin Chem 1978;24:58.

2. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Fundamento de Química Clínica, 4a Ed - Guanabara Koogan SA; 1998.

3. Gella FJ et al. Clin Chim Acta 1985; 153-241-247.

4. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. J Clin Chem Clin Biochem 1986; 24:497-510.

5. Karmen A. J Clin Invest 1955;34:131.

6. Lopes HJJ. Enzimas no Laboratório Clínico- Aplicações Diagnósticas. Belo Horizonte, Analisa Diagnóstica, 1998.

7. Sociedad Española de Química Clínica, Comité Científico, Comisión de Enzimas. Quim Clin 1987; 6:235-239.

8. Westgard JO, Groth T. Clin. Chem. 1981;27:493-501.

9. GOLD ANALISA: Informe Técnico do Produto.

APRESENTAÇÃO

| REF. | Reagentes | Volume |
|------|-----------|-----------|
| 421M | Tampão | 1 x 24 mL |
| | Coenzima | 1 x 6 mL |
| 421 | Tampão | 2 x 24 mL |
| | Coenzima | 2 x 6 mL |
| 421E | Tampão | 4 x 24 mL |
| | Coenzima | 4 x 6 mL |

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

Lei nº 8.078 de 11-9-90 - Código de Defesa do Consumidor

A Gold Analisa garante a substituição, sem ônus para o consumidor, de todos os produtos que comprovadamente apresentarem problemas técnicos, desde que o usuário utilize equipamentos e materiais em boas condições técnicas, siga rigorosamente o procedimento técnico e as recomendações estabelecidas nas Instruções de Uso.

Nº do lote e data de validade: Vide Rótulos do Produto

Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16

AF MS Nº 800222-3 - Reg. MS - Nº 80022230083

Farm. Resp. José Gilmar Pereira Berto - CRF-MG 13421

Av. Nossa Senhora de Fátima, 2363 - Carlos Prates - Fone: (31) 3272-1888

Belo Horizonte MG Brasil CEP: 30710-020









Home page: www.goldanalisa.com.br

E-mail: goldanalisa@goldanalisa.com.br

Setor de Apoio ao Cliente (SAC): 0800 703 1888

Analisa é marca registrada da Gold Analisa Diagnóstica Ltda

SIMBOLOGIA

| | | | |
|---|--|---|--------------------------------|
|  | Número do catálogo |  | Limite de temperatura |
|  | Número do lote |  | Quantidade de testes |
|  | Produto para diagnóstico <i>in vitro</i> |  | Consultar as instruções de uso |
|  | Data limite de utilização |  | Fabricado por |