



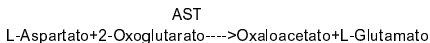
# QUIMIAST – AST/TGO Aspartato Aminotransferase

## Finalidade:

Reação enzimática para determinação quantitativa da Aspartato aminotransferase (AST/TGO) em amostras de soro humano. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

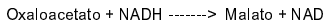
## Princípio:

O aspartato aminotransferase (AST/TGO) catalisa a transferência do grupo amino do L- aspartato ao 2-oxoglutarato, formando oxaloacetato e L-glutamato. A concentração catalítica se determina empregando a reação de malato desidrogenase (MDH), a partir da velocidade de desaparecimento do NADH. A razão resultante da diminuição na absorbância a 340nm é diretamente proporcional à atividade do AST. O lactato desidrogenase (LDH) é adicionado para prevenir interferência do piruvato endógeno, o qual está normalmente presente no soro. O presente método está baseado nas recomendações da Federação Internacional de Química Clínica (IFCC). Temos então a seguinte reação:



AST

MDH



## Metodologia:

UV

## Significado Clínico:

O AST está grandemente distribuído com altas concentrações no coração, fígado, músculo do esqueleto, rins e eritrócitos. Danos ou doenças em qualquer um destes tecidos, tais como infarto do miocárdio, hepatite viral, necrose do fígado, cirrose e distrofia muscular, podem resultar em níveis de soro aumentado do AST. No caso de infarto do miocárdio, o AST começa a elevar de 6 a 12 horas após o ocorrido, às 48 horas atinge níveis máximos e retorna a valores normais dentro de 4 a 6 dias.

No caso de conclusão de diagnóstico, devem ser realizados testes complementares para serem comparados com os de outras enzimas similares, que permita completar o perfil enzimático dos órgãos comprometidos.

## Reagentes:

Reagente único pronto para uso. Conservar entre 2 - 8 °C. Contém: 2-oxoglutarato 13 mmol/L, L-aspartato 220 mmol/L, NADH 0.12 mmol/L, Malato desidrogenase (MDH) > 100 U/L, LDH > 1500 U/L, Tampão Tris 97 mmol/L em pH 7.9 ± 0.1.

O reagente não aberto é estável até a data de vencimento impressa no rótulo do produto, e on board (no compartimento refrigerado do analisador) possuem estabilidade de aproximadamente 30 dias. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminação de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

## Precauções e Cuidados Requeridos:

Este reagente deve ser usado somente para diagnóstico "in vitro". Não pipetar com a boca. Evitar contato com a pele e roupa. No caso de contato com os olhos, lavar com grande quantidade de água e procurar auxílio médico.

Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos.

Não usar se a absorbância inicial estiver abaixo de 1.000 (convertido para 1,0 cm de espaço ótico) quando medido a 340 nm ou se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco.

## Material Necessário não Fornecido:

- Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorbância de 340 nm.
- Pipetas para medição de amostras e reagente.
- Água destilada/deionizada.
- Consumíveis do analisador quando usado.
- Soros Controle e Calibrador.
- Medidor de tempo.

## Amostra:

É recomendado soro livre de hemólise, pois as hemácias contêm AST. A AST na amostra é estável por 7 dias se mantido entre 2 - 8°C. A amostra poderá ser congelada (-20°C) por 1 um mês quando vedada e tres dias quando armazenada em temperatura ambiente.

Todas as amostras e controles são considerados potencialmente infectantes, portanto sugerimos manuseá-las seguindo as normas estabelecidas de Biossegurança.

## Preparo do Paciente:

É recomendado um jejum de 4 horas. Todavia, poderá ser modificado segundo orientação médica.

## Interferências:

Hemólise – evitar amostras que apresentem hemólise. Bilirrubina até 22.7 mg/dL e lipemia até 533 mg/dL medida como triglicérides não interferem significativamente no resultado. Uma leitura muito baixa, junto com uma pequena mudança de absorbância entre as leituras pode indicar um nível muito alto de AST. Dilua com salina a amostra e repita o teste multiplicando o resultado pelo fator de diluição. Turbidez ou amostras altamente icterícia podem dar leituras cujas absorbâncias iniciais excedem a capacidade do espectrofotômetro. Resultados mais apurados podem ser obtidos pelo uso de 0.05 mL (50 µL) da amostra e multiplicar a resposta final por 2. Algumas drogas e substâncias afetam a concentração do AST, sugerimos consultar Young et al.

## Parâmetros do Sistema:

Temperatura: 37°C  
Comprimento de Onda: 340 nm.  
Tipo de Reação: Cinética  
Direção: Decrescente  
Relação Amostra/Reativo: 1: 10  
Vol. Amostra: 100 µL  
Vol. Reagente: 1,0 mL  
Tempo de incubação = 30 segundos (retardo)  
Intervalo de leitura: 1 - 3 minutos  
Número de intervalo: 2 a 3

## Calibração:

Utilizar Quimicalib Ebram cód.7023/12023 que possui a concentração rastreável ao método de referência proposto pelo CLSI, ou realizar a calibração através de fatoração, obtida através da absorção média milimolar do NADH a 340 nm sob condições específicas.

## Procedimento Automatizado:

Aplicação no sistema automatizado: vide manual para utilização do equipamento e instruções de uso do reagente.

Aplicação no sistema semi-automático: proceder como demonstrado a seguir no procedimento manual somente até o item 1 (preparação dos tubos), em seguida utilizar o equipamento para leitura, seguindo protocolo analítico específico baseado no item Parâmetros do Sistema.

Nota: Adicionar as amostras no tubo somente no momento que antecede a aspiração do equipamento.

## Procedimento Manual:

- Separar 3 tubos de ensaio e realizar os procedimentos conforme abaixo:

	Branco	Calib.	Amostra/S.C.
Água destilada	100µL	-	-
Calibrador	-	100µL	-
Amostra/S.C.	-	-	100µL
Reagente	1,0mL	1,0 mL	1,0 mL

- Adicionar 1,0 mL do reagente em dois tubo e deixe em banho - maria (BM) a 37°C. O nível de água no BM deve ser superior ao nível de reagentes nos tubos de ensaio.
- Adicionar 100µL do calibrador e 100µL de água destilada em cada tubo.
- Aguardar de 30 segundos
- Zerar o espectrofotômetro a 340nm com o tubo do branco.
- Inserir no equipamento o tubo com o calibrador e registrar as absorbâncias A1, A2, A3, considerando A1 a primeira leitura (logo após os 30 segundos de retardo) e as seguintes com 1 minutos de intervalo.
- Determinar as duas diferenças de absorbância/min (Δ Abs/min), subtraindo cada leitura de sua anterior.
- Determinar a média das diferenças de absorbância (Δ Abs/min). Proceder em seguida do mesmo modo com os controles e todas as amostras.

Obs.: Procedimento sugerido para espectrofotômetros que requerem volume mínimo de 1,0 mL e podem ser ajustados proporcionalmente sem influência no desempenho do teste. Salientamos que volumes de amostra menores do que 10 µL aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

## Cálculos:

$$\text{(Abs. = Absorbância)} \\ \text{(Conc. = Concentração)} \\ \Delta \text{ Abs. /min} = (A2 - A1) + (A3 - A2) / 2$$

$$\text{TGO da} \quad \Delta \text{ Abs /min (amostra)} \quad \text{Conc. Do} \\ \text{Amostra (U/L)} = \frac{\Delta \text{ Abs /min (amostra)}}{\Delta \text{ Abs /min (Calib)}} \times \text{Calib (U/L)}$$

## Exemplo:

$$\text{Absorbancia com o Calibrador} \\ A1 = 0,045 / A2 = 0,075 / A3 = 0,147 \\ \text{Média} = (0,075 - 0,045) + (0,147 - 0,075) \\ \Delta \text{ Abs/min} = \frac{0,030 + 0,072}{2} = 0,051$$

$$\text{Média } \Delta \text{ Abs/min (calib)} = 0,0625 \\ \text{Média } \Delta \text{ Abs/min (amostra)} = 0,0514 \text{ (calc. l dem acima)} \\ \text{Concentração do Calibrador} = 101 \text{ U/L}$$

$$\text{TGO Amostra} = (0,0514 / 0,0625) \times 101 \\ \text{TGO Amostra} = 83 \text{ U/L} \\ \text{Obs: nkat/L} = \text{U/L} \times 16,67$$

## Linearidade:

Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 600 U/L.

Amostras com valores superiores a 600 U/L (0,34 Δ Abs/min) devem ser diluídas com solução salina a ponto de ficarem entre 0 - 600 U/L e os resultados devem ser multiplicados pelo fator de diluição.

## Controle de Qualidade:

Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e ações corretivas. Deve-se manter também um sistema definido para se monitorar a variação analítica do sistema de medição. Aconselhamos o uso dos soros controle Quimicontrol Normal e Quimicontrol Anormal Ebram Cód. 7024/12024 e 7031/12031.

## Valores Esperados:

5 - 34 U/L, baseados nas medições desempenhadas a 37°C. Estes valores são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

## Estudos Comparativos:

Estudos executados entre este procedimento e uma metodologia similar produziram os seguintes resultados:

Número de Amostras:	30
Intervalo dos resultados	8 - 137 U/L
Coefficiente de Correlação:	0,98
Inclinação:	0,93
Intercepta:	2,64 (U/L)

## Precisão:

Estudos de precisão foram executados com dois níveis (normal e patológico) sendo que cada amostra fora processada por 10 vezes e os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=10	Nível 1	Nível 2
Média (U/L)	34,4	160,3
D.P. (U/L)	2,8	3,1
C.V. (%)	8,1	1,9

## Exatidão:

As amostras foram processadas por 10 dias consecutivos, uma vez por dia e em duplicata. Os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=10	Nível 1	Nível 2
Média (U/L)	34,9	165
D.P. (U/L)	1,8	5,5
C.V. (%)	5,1	3,3

## Sensibilidade Metodológica:

1,2 U/L

## Especificidade:

Como as amostras foram selecionadas aleatoriamente em pacientes de ambulatório e hospitalizados, pode-se inferir que o método tem uma especificidade metodológica adequada.

## Observações:

- A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
- A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade ≥ 1 mega ohm ou condutividade ≤ 1 microsiemens e concentração de silicatos < 0,1 mg/L (água tipo II). Para o enxágue da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade ≥ 0,1 megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágue final utilizar água tipo II.

## Apresentação:

Linha Bioquímica Geral: 8 x 15mL

Linha Hitachi 917: 3 x 65mL

Linha Bulk: 1 x 500mL

Linha Quimisat 450: 2 x 45mL

Para mais informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM - tel. (011) 2291-2811, sac@ebram.com ou www.ebram.com

## Referência Bibliográfica:

- Zilva JF., Pannal PR: Plasma Enzymes in Diagnosis in Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment, Lloyd-Luke London. 1979: Chap 15:338-9
- Karmen, A., et al. J. Clin. Invest 34:126 (1955)
- Henry, R.J., et al. Am. J. Clin. Path. 34:381 (1960)
- Amador, E., Wacker, W. Clin. Chem. 8:343 (1962)
- Expert panel of Enzymes of the International Federation of Clinical Chemistry, Clin. Chem. 24: 497-510 (1986)
- Henry, R.J., Clinical Chemistry: Principles and Technics, Harper and Row, New York, p 522 (1968)
- Young, D.S. et al. Clin. Chem. 21:1D (1975).
- Tietz, N.W. Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Co., Philadelphia pp 682 (1976).
- Miller, O., Gonçalves, R.R., Laboratório para o Clínico, 8 ed., Atheneu, (1998).
- Arquivos da EBRAM.



### APLICAÇÃO PARA COBAS MIRA

<b>GENERAL</b>	
Measurement Mode:	ABSORB
Reaction Mode:	R-S
Calibration Mode:	Calib (Slope AVG)
Reagent Blank:	Reagent/Dil
Cleaner:	Before
Wavelength:	340 nm
Decimal Position:	0
Unit:	U/L
<b>ANALYSIS</b>	
Dilution Name:	STD:
Factor:	Main STD:
Time:	Sample Dil Name: H2O
Post Dil Factor: 5.00	Conc. Factor: No
Sample:	Circle: 1
Volume:	Dil: 20ul
Reagent:	Circle: 1
Volume:	180ul
Start Reagent 1:	Circle:
Volume:	Dil:
Start Reagent 2:	Circle:
Volume:	Dil:
<b>CALCULATION</b>	
Sample Limit:	0.8000
Point:	T1
Reaction Direction:	Decrease
Check:	On
Conversion Factor:	1.00000
Offset:	0.00000
Test Range Low:	0
High:	600
Norm Range Low:	5
High:	34
Number of Steps:	1
Calculation Step A:	Kinasearch
Readings First:	3
Last:	12
Reaction Limit:	0.31
Point:	T1
Calib. Interval:	On Request
<b>CALIBRATION</b>	
Reagent Blank:	
Reagent Range:	
Reagent Range Low: 0.0000	Blank Range Low: -0.0050
High: 1.5000	High: 0.0050
Factor:	
Calibrator Pos:	(*)
STD1:	(**) STD2:
STD3:	STD4:
STD5:	STD6:
STD7:	STD8:
<b>Calc Model:</b>	
Correction STD:	
Replicate:	
Deviation:	
<b>CONTROL</b>	
CS1 - Pos(*) Assion(**) Low(**) High(**)	
CS2 - Pos(*) Assion(**) Low(**) High(**)	
CS3 - Pos(*) Assion(**) Low(**) High(**)	

(\*) colocar a posição correspondente do Rack CAL/CS  
 (\*\*) colocar o valor correspondente do calibrador  
 (\*\*\*) colocar o valor correspondente do soro controle

### APLICAÇÃO PARA EXPRESS 550

Test Name: AST/TGO	Test: AST			
Test Bar Code:				
Test Type: Kinetic	Curve Type: Enzyme Linear			
Units: U/L	Nº of Decimal Places: 0			
Primary Wavelength: 340	Secondary Wavelength: 380			
Read Time Interval: 60	Sample Blank: No			
Factor:				
Calibration Interval: 999				
Normalization Interval:				
Nº of Calibrators: 2	Nº of Replicates: 2			
Low Blank A Limit:	High Blank A Limit: 2.000			
Low A Limit:	High A Limit: 2.000			
Low Normal: 5	High Normal: 34			
Linearity Limit: 600	Curve S D Limit: 2.00			
Test Name: AST/TGO	Test: AST			
Test Bar Code:				
Sample Volume: 25ul	Sample Diluent:			
Rerun Dilution Ratio: 2	Predilution Ratio: 1			
Reagent Dilution:				
Reagent 1	Reagent Volume	Bar Code	Diluent Volume	Lag Time
Reagent 2				
Reagent 3				
Reagent 4				
Controls:				

### APLICAÇÃO PARA SELECTRA

Name:	AST/TGO
Abbr Name:	AST
Mode:	Kinetic
Wavelength:	340 nm
Units:	U/L
Decimals:	0
Low Conc:	0
High Conc:	800
Calibrator Name:	(*)
Repeat:	2
Number:	1
Concentration:	(**)
Interval:	(*)
Cut off:	NO
Prozone Check:	NO
Ref Male Low:	5
Ref Male High:	34
Ref Female Low:	5
Ref Female High:	34
Ref Pad Low:	(*)
Ref Pad High:	(*)
Control 1:	(*)
Control 2:	(*)
Control 3:	(*)
Correlat Factor:	1.000
Correlat Offset:	0.000

<b>DUAL MODE</b>	
Name:	AST
Sample Blank:	NO
R1 Bottle:	25 ml
Normal Volume:	300ul
Rerun Volume:	320ul
<b>SAMPLE</b>	
Normal Volume:	30ul
Rerun Volume:	10ul
R2 Bottle:	5 ml
Normal Volume:	0
Rerun Volume:	0
Predilution:	NO
Slope Blank:	NO
Delay Min Time:	77.159 sec
Linearity Limit:	15%
Point One, Two:	
Incubation Time:	
Low Absorbance:	0.550
High Absorbance:	3.000
R ABS L Limit:	1.000
R ABS H Limit:	2.000
Substr Deletion:	
Reagent Blank:	-0.500
R ABS Deviation:	YES (**)
Cal Low Limit:	
Cal High Limit:	
Factor:	***

<b>MONO MODE</b>	
Name:	AST
Sample Blank:	NO
R1 Bottle:	25 ml
Normal Volume:	300 ul
Rerun Volume:	320ul
<b>SAMPLE</b>	
Normal Volume:	30ul
Rerun Volume:	10ul
Delay Min Time:	70.156 sec
Linearity Limit:	15 %
Predilution:	
Incubation Time:	
Point One, Two:	
Low Absorbance:	0.550
High Absorbance:	3.000
R ABS L Limit:	1.000
R ABS H Limit:	2.000
Substr Deletion:	0.8
R ABS Deviation:	-0.500
Reagent Blank:	YES (**)
Cal Low Limit:	(*)
Cal High Limit:	(*)
Factor:	(**)
(*)	Dados colocados pelo usuário
(**)	Colocar valor correspondente do calibrador
(***)	Dados calculados pelo analisador
(#)	

### APLICAÇÃO PARA BTR 810

Name:	AST/TGO
Point Final:	
Units:	U/L
Mode Label:	
File:	340
Tempo Estab:	
Factor:	
Tempo de Incubação:	60
Tempo de Intervalo:	60
Nº de Intervalos:	3
Temperatura:	37°C
Volume Análise:	400
Volume Amostra:	Decrescente
Tipo Resultado:	Decrescente
Estándar:	**

### APLICAÇÃO PARA QUICK LAB

Mode:	Chédico
Label:	
File:	340
Temperature:	37°C
Volume Ass:	400
Units:	U/L
Limite Lin:	600
Inclinação:	Decrescente
Check:	PROBAO
Padão:	(**)
Factor:	
Delay Inicial:	60
Quant Inicial:	3
Tempo Interval:	60
Tempo Estab:	

### APLICAÇÃO PARA BIO 2000

Mode:	Chédico
WL1:	340
Blank:	Não
Blk Amoa Pad:	
Tempo:	37°C
Vol Assa:	400
Ref:	60
Est:	
Padão:	SIM
Pad:	UNICA
Pad1:	(**)
Unit:	U/L
Dev:	0
Int Clin:	60
nº Inj:	3
dAMIN:	0.200
%Lim Lin:	10
Dir:	Dec
Lim Lin - Min/Max:	
Abs. Real - Min/Max:	1.4/2.5
Abs. Pad - Min/Max:	
Vol/N - Min/Max:	10/35

### APLICAÇÃO PARA RA-XT

Name:	AST
Immunosay:	NO
Chemistry Type:	ZERO ORDER
Bio Item:	
Immuno Chemistry:	YES
% Sample Volume:	38 (18ul)
Wavelength:	340
Biochemical Chemistry:	
Biochemical Factor:	1.0000
K1:	
K2:	
Bio Limit 1:	
Bio Limit 2:	
Deviation Limit:	0.1850
Delay Time:	1.00
Blank Type:	
Incubate:	
% Reagent Volume:	65 (330ul)
2nd Reagent:	NO
2nd Reagent Volume:	
A2 Delay:	
Units:	U/L
Unit Factor:	1.0000
Decimal Point:	0
RBI Low:	0.560
RBI High:	
Range Low:	0
Range High:	600
Calibration Factor:	(*)
Reagent Rate:	0.0010
Standard Value:	(**)
Normal Low:	5
Normal High:	34
Slope:	1.000
Intercept:	0.0000
C1*10E6:	0.00
C2*10E6:	9999.91
D1*10E6:	90.00
Delta R:	0.012
Linear Factor:	
Final Limit:	
Endpoint Limit:	
(*)	Colocar 1 como valor inicial. O valor CAL FACT é determinado pelo analisador
(**)	Colocar a concentração do calibrador

### APLICAÇÃO PARA AIRONE

Measure Unit: U/L	Decimals: 0	Reaction Type: Kinetic
Volume (µl):	Serum: 40	Plasma: -
	Reagent 1: 400	Reagent 2: 0
Abs Range (m Abs):	Min: 0	Max: 2.500
Linearity Limit:	600	Reagent Blank: No
Contaminating:	No	Differential: No
Filter 1:	340	Filter 2: None
Time (sec):	Mix 1: 0.00	Incubation 1: 40
	Mix 2: 0.00	Incubation 2: 0
Measurement Type: STANDARD		Factor: 0.00
Normal Range		
Age (yrs)	Min.	Max.
Below 10:		
From 10 to 80:	5	34
Over:		

Ebram Prods. Laboratoriais Ltda®  
 Rua Júlio de Castilhos, nº 500 - Belenzinho  
 São Paulo - SP - Cep: 03059-001  
 Tel.: (11) 2291-2811  
 Indústria Brasileira  
 CNPJ.: 50.657.402/0001-31  
 www.ebram.com  
 sac@ebram.com  
 SAC.: (11) 2291-2811  
 Resp.Téc.: Nadjara Novaes Longen  
 CRF-SP - 37.451  
 Nº do Reg. MS: 10159820100  
 Edição: junho/2016

Disponemos de programações para outros analisadores, entre em contato com SAC EBRAM.