



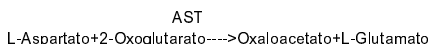
QUIMIAST – AST/TGO Aspartato Aminotransferase

Finalidade:

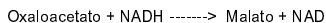
Reação enzimática para determinação quantitativa da Aspartato aminotransferase (AST/TGO) em amostras de soro e plasma humano. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

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 absorvância 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:



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, após aberto o reagente possui estabilidade de 3 meses desde que armazenado de 2 a 8°C, e on board (no compartimento refrigerado do analisador), a estabilidade depende da eficiência da refrigeração do equipamento e, por isso, pode variar de 7 a 10 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 absorvância inicial estiver abaixo de 0,9 (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:

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

Amostra:

É recomendado soro e plasma livre de hemólise, pois as hemácias contêm AST. Heparina e EDTA são os únicos anticoagulantes aceitáveis. A AST na amostra é estável por 1 dia se armazenada de 15 a 25°C, por 7 dias de 4 a 8°C e por 12 semanas a -20°C.

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:

Amostras hemolisadas podem elevar os resultados, uma vez que a atividade do AST é 15 vezes maior nos eritrócitos do que no soro normal.

Amostras lipêmicas podem apresentar absorvâncias iniciais que excedem a capacidade do espectrofotômetro. Dilua a amostra com solução salina e repita o teste multiplicando o resultado pelo fator de diluição.

Citrato e flúor inibem a atividade enzimática.

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:

1. 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

2. 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.

4. Adicionar 100µL do calibrador e 100µL de água destilada em cada tubo.

5. Aguardar 30 segundos

6. Zerar o espectrofotômetro a 340nm com o tubo do branco.

7. Inserir no equipamento o tubo com o calibrador e registrar as absorvâncias A1, A2, A3, considerando A1 a primeira leitura (logo após os 30 segundos de retardo) e as seguintes com 1 minuto de intervalo.

8. Determinar as duas diferenças de absorvância/min (Δ Abs/min), subtraindo cada leitura de sua anterior.

9. Determinar a média das diferenças de absorvância (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:

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

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

Exemplo:

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

Média Δ Abs/min (calib) = 0,0625
Média Δ Abs/min (amostra) = 0,0514 (calc. l dem acima)
Concentração do Calibrador = 101 U/L

TGO Amostra = $(0,0514 / 0,0625) * 101$
TGO Amostra = 83 U/L
Obs: nkat/L = U/L x 16,67

Linearidade:

Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 400 U/L.

Amostras com valores superiores a 400 U/L (0,34 Δ Abs/min) devem ser diluídas com solução salina a ponto de ficarem entre 5 - 400 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:

	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:

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

Sensibilidade Metodológica:

5 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:

1. A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
2. 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: 1 x 200mL

Linha Bulk: 1 x 500mL

Linha Quimisaat 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:

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



APLICAÇÃO PARA COBAS MIRA

GENERAL	
Measurement Mode:	ABSORB
Reaction Mode:	R-S
Calibration Mode:	Calib (Single AVG)
Reagent Blank:	Reagent/Dil
Cleaner:	Before
Wavelength:	340 nm
Decimal Position:	0
Unit:	U/L
ANALYSIS	
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:	160ul
Start Reagent 1:	Circle:
Volume:	Dil:
Start Reagent 2:	Circle:
Volume:	Dil:
CALCULATION	
Sample Limit:	0.8000
Point:	T1
Reaction Direction:	Decrease
Check:	On
Conversion Factor:	1.00000
Offset:	0.00000
Test Range Low:	5
High:	400
Norm Range Low:	5
High:	34
Number of Slats:	1
Calculation Slope A:	Kinaseach
Readings First:	3
Last:	12
Reaction Limit:	0.31
Point:	T1
Calib Interval:	On Request
CALIBRATION	
Reagent Blank:	
Reagent Range:	
Reagent Range Low:	0.0000
Blank Range Low:	-0.0050
High:	1.5000
Blank Range High:	0.0050
Factor:	
Calibrator Pos:	(*)
STD1:	(**)
STD2:	
STD3:	
STD4:	
STD5:	
STD6:	
STD7:	
STD8:	
Calc Model:	
Correction STD:	
Replicate:	
Deviation:	
CONTROL	
CS1 - Pos(*) Assay(**) Low(**) High(**)	
CS2 - Pos(*) Assay(**) Low(**) High(**)	
CS3 - Pos(*) Assay(**) Low(**) High(**)	

(*) colocar a posição correspondente do Rack CAUCS
 (**) 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: 400	Curve S.D Limit: 2.00			
Test Name: AST/TGO	Test: AST			
Test Bar Code:				
Sample Volume: 25ul	Sample Diluent:			
Reagent Dilution Ratio: 2	Predilution Ratio: 1			
Reagent Dilution:				
Reagent 1	Reagent Volume: 250	Bar Code: ZF2A	Diluent Volume:	Lag Time: 60
Reagent 2				
Reagent 3				
Reagent 4				
Controls:				

APLICAÇÃO PARA SELECTRA

Name:	AST/TGO
Abbr Name:	AST
Mode:	Kinetic
Wavelength:	340 nm
Units:	U/L
Factor:	0
Decimals:	5
Low Conc:	400
High Conc:	(*)
Calibrator Name:	(*)
Reagent Number:	2
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:	(*)
Comstat Factor:	1.000
Comstat Offset:	0.000
DUAL MODE	
Name:	AST
Sample Blank:	NO
R1 Bottle:	25 ml
Normal Volume:	300ul
Reagent Volume:	320ul
SAMPLE	
Normal Volume:	30ul
Reagent Volume:	10ul
R2 Bottle:	5 ml
Normal Volume:	0
Reagent 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 Depletion:	
Reagent Blank:	-0.500
R ABS Deviation:	YES (**)
Cal Low Limit:	
Cal High Limit:	
Factor:	(**)
MONO MODE	
Name:	AST
Sample Blank:	NO
R1 Bottle:	25 ml
Normal Volume:	300 ul
Reagent Volume:	320ul
SAMPLE	
Normal Volume:	30ul
Reagent 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 Depletion:	0.6
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:	UL
Units:	U/L
Mode Label:	340
Filter:	
Tempo Estab:	
Factor:	
Tempo de Incubação:	60
Tempo de Interação:	60
Nº de Interações:	3
Temperatura:	37°C
Volume Amostrado:	400
Tempo Resposta:	Decomponha
Estabilidade:	**

APLICAÇÃO PARA QUICK LAB

Mode:	Chédica
Le Lum:	
Filter:	340
Temperatura:	37°C
Volume Amoc:	400
Units:	U/L
Line Lin:	400
Inclinação:	Decomponha
Cálculo:	PADRAO
Padão:	(*)
Factor:	
Delay Inicial:	60
Quant Intery:	3
Tempo Intery:	60
Tempo Estab:	

APLICAÇÃO PARA BIO 2000

Mode:	Chédica
WL1:	340
Blank:	Não
Blk Amoa Pad:	
Tempo:	37°C
Vol Amoc:	400
Rei:	60
Pad:	
Padão:	SIM
Pad:	ÔNICA
Unit:	(**)
Unit:	U/L
Dec:	0
Int Clin:	60
nº Int:	3
dAMIN:	0.200
%Lim Lin:	10
Dir:	Dec
Lim Lin - Min/Max:	
Abs Real - Min/Max:	1.4125
Abs Pad - Min/Max:	
Vol/n - Min/Max:	10 / 35

APLICAÇÃO PARA RA-XT

Name:	AST
Immunosay:	NO
Chemistry Type:	ZERO ORDER
BioType:	
Innova Chemistry:	YES
% Sample Volume:	38 (18ul)
Wavelength:	340
Biochemical Chemistry:	
Biochemical Factor:	1.0000
K1:	
K2:	
Bio Limit 1:	
Bio Limit 2:	
Detection Limit:	0.1850
Delay Time:	1.00
Blank Type:	
Incubation:	
% Reagent Volume:	66 (330ul)
2nd Reagent:	NO
2nd Reagent Volume:	
A2 Delay:	
Units:	U/L
Unit Factor:	1.0000
Decimal Point:	0
RBL Low:	0.580
RBL High:	
Range Low:	5
Range High:	400
Calibration Factor:	(*)
Reagent Rate:	0.0010
Standard Value:	(**)
Normal Low:	5
Normal High:	34
Slope:	1.000
Intercept:	0.0000
C1*10E-6:	0.00
C2*10E-6:	8999.01
D1*10E-6:	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):	Reagent: 40	Plasma:	-	Urine:	-
	Reagent 1: 400	Reagent 2:	0		
Abs Range (m Abs):	Min: 0	Max:	2.500	Reagent Blank:	No
Linearity Limit:	400	Differential:	No	Filter 2:	None
Contaminating:	No				
Filter 1:	340				
Time (sec):	Mix 1: 0.00	Incubation 1:	40	Lag Phase:	20
	Mix 2: 0.00	Incubation 2:	0	Measure:	30
Measurement Type:	STANDARD	Factor:	0.00		
Normal Range					
		Homens		Mulheres	
Age (yrs)		Min.	Max.	Min.	Max.
Below 10:					
From 10 to 80:		5	34	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: Mar/2020

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