

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMIAST – AST/TGO	Página 1 de 4 POP BIOxxx/xx
--------------------------------------	---	--

USO

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 endogênico, 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

L-Aspartato+2-Oxoglutarato----->Oxaloacetato+L-Glutamato

MDH

Oxaloacetato + NADH -----> Malato + NAD

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.

PRODUTO UTILIZADO

QUIMIAST – AST TGO MS: 10159820100

Fabricante: Ebram Produtos Laboratoriais Ltda.

Rua Julio de Castilhos, 500.

Belenzinho – São Paulo –SP – Brasil - CEP: 03059-001

Para maiores informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM:

Tel. (011) 2291-2811 ou sac@ebram.com

REAGENTES

Reagente único pronto para uso. Conservar entre 2 - 8 °C. Contem: 2-oxoglutarato 13 mmol/L, L-aspartato 220mmol/L, NADH 0.12mmol/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 ESPECIAIS

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.

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUMIAST – AST/TGO	Página 1 de 4 POPBIOxxx/xx
--------------------------------------	--	---------------------------------------

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 0,9 (convertido para 1,0 cm de espaço ótico) quando medido a 340nm ou se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco.

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.

MATERIAL NECESSÁRIO NÃO FORNECIDO

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

PROCEDIMENTO

• Procedimento automático:

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

Aplicação no sistema semiautomático: 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	1,0mL	1,0mL

2. Adicionar 1,0mL do reagente em dois tubos 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.
3. Adicionar 100µL do calibrador e 100µL de água destilada em cada tubo.
4. Aguardar 30 segundos.
5. Zerar o espectrofotômetro a 340nm com o tubo do branco.
6. 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 minuto de intervalo.
7. Determinar as duas diferenças de absorbância/min (Δ Abs/min), subtraindo cada leitura de sua anterior.

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUMIAST – AST/TGO	Página 1 de 4 POPBIOxxx/xx
--------------------------------------	--	---------------------------------------

8. Determinar a media 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 1,0mL e podem ser ajustados proporcionalmente sem influencia no desempenho do teste. Salientamos que volumes de amostras menores do que 10 μ L aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

CÁLCULOS

(Abs.= Absorbância)

(Conc. = Concentração)

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

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

RESULTADOS

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

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- **Linearidade / Sensibilidade**

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.

Sensibilidade: 5 U/L

- **Interferências:**

Amostras hemolisadas podem elevar os resultados, uma vez que a atividade do AST e 15 vezes maior nos eritrócitos do que no soro normal. Amostras lipemicas podem apresentar absorbâncias 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 substancias afetam a concentração do AST, sugerimos consultar Young et al.

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 agua utilizada no laboratorio 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 (agua tipo II). Para o enxague da vidraria a agua pode ser do tipo III, com resistividade $\geq 0,1$ mega ohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxague final utilizar água tipo II.

REFERÊNCIAS

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)

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUMIAST – AST/TGO	Página 1 de 4 POPBIOxxx/xx
--------------------------------------	--	---------------------------------------

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.

	Nome	Assinatura	Data
Elaborado por			
Aprovado por			
Revisado por			
Desativado por			
Razão			

VER: Nov/20