



QUIMIAST - AST/TGO

Aspartato Aminotransferase

REG. MS: 10159820100

EGRAM PRODUTOS LABORATORIAIS LTDA.

Rua Julio de Castilhos, 500 - Belenzinho
São Paulo - SP - Tel.: +55 11 2291 2811
CEP 03059-001 | Indústria Brasileira
CNPJ.: 50.657.402/0001-31

RESPONSÁVEL TÉCNICA

Dra. Nadjara Novaes Longen | CRF-SP - 37.451

Para mais informações, entrar em contato com o **SAC EBRAM**

0800 500 2424 ou 11 2574 7110

sac@ebram.com | www.ebram.com

FINALIDADE. Reação enzimática para determinação quantitativa da Aspartato aminotransferase (AST/TGO) em amostras de soro e plasma. 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 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:



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 a 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 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 absorbância de 340 nm.
2. Pipetas para medição de amostras e reagente.
3. Água destilada/deionizada.
4. Consumíveis do analisador quando usado.
5. Soro Controle e Calibrador.
6. Cronômetro.

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 à 25°C, por 7 dias de 4 à 8°C e por 12 semanas à 20°C.

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

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 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 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 x 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 intervalos	2 a 3

CALIBRAÇÃO. Utilizar Quimicalib Ebram cód.7023/12023 que possui a concentração rastreável ao ERM-AD457/IFCC, 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, segundo 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:

	1. Branco	2. Calibrador	3. Amostra/S.C.
Água destilada	100µL	-	-
Calibrador	-	100µL	-
Amostra	-	-	100µL
Reagente	1,0 mL	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.

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

3. Aguardar 30 segundos
4. Zerar o espectrofotômetro a 340nm com o tubo do branco.
5. 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.
6. Determinar as duas diferenças de absorbância/min ($\Delta \text{Abs}/\text{min}$), subtraindo cada leitura de sua anterior.
7. Determinar a média das diferenças de absorbância ($\Delta \text{Abs}/\text{min}$). 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.=Absorbância) (Conc. = Concentração)

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

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

EXEMPLO:

Absorbância com o Calibrador

$$\text{A1}=0,045 / \text{A2}=0,075 / \text{A3}=0,147$$

$$\text{Média } \Delta \text{Abs}/\text{min} = \frac{(0,075 - 0,045) + (0,147 - 0,075)}{2}$$

$$\text{Média } \Delta \text{Abs}/\text{min (calib)} = 0,0625$$

$$\text{Média } \Delta \text{Abs}/\text{min (amostra)} = 0,0514 \text{ (calc. I dem acima)}$$

$$\text{Concentração do Calibrador} = 101 \text{ U/L}$$

$$\text{TGO Amostra} = (0,0514 / 0,0625) * 101$$

$$\text{TGO Amostra} = 83 \text{ U/L}$$

$$\text{Obs: nkat/L} = \text{U/L} \times 16,67$$

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

Amostras com valores superiores a 400 U/L (0,34 $\Delta \text{Abs}/\text{min}$) devem ser diluídas com solução salina a ponto de ficarem entre 1,2 - 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. Os seguintes valores são baseados nas medições desempenhadas a 37°C.

Caninos: 23 - 66 U/L

Felinos: 26 - 43 U/L

Bovinos: 78 - 132 U/L

Equinos: 226 - 366 U/L

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
Coeficiente 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 (mg/dL)	34,4	160,3
D.P. (mg/dL)	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 (mg/dL)	34,9	165
D.P. (mg/dL)	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.

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 $< 0,1 \text{ mg/L}$ (água tipo II). Para o enxágüe da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade $\geq 0,1$ megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágüe final utilizar água tipo II.

LIMITAÇÕES DO TESTE.

Como acontece com todos os testes de diagnóstico, todos os resultados devem ser avaliados juntamente com outras informações clínicas disponíveis para o médico.

APRESENTAÇÃO.

Linha Bioquímica Geral: 1 x 200mL

Linha Bulk: 1 x 500mL

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.

SÍMBOLOS UNIVERSAIS UTILIZADOS EM EMBALAGENS DE DIAGNÓSTICO IN VITRO

	CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO		REAGENTE		FABRICADO POR
	O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTES		DATA DE VALIDADE (ÚLTIMO DIA DO MÊS)		NÚMERO DO LOTE
	LIMITE DE TEMPERATURA (CONSERVAR A)		PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO		NÚMERO DO CATÁLOGO
	USO VETERINÁRIO				