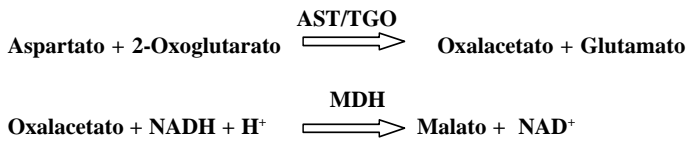


## FINALIDADE

Sistema cinético para determinação de AST/TGO no soro ou plasma.

**Somente para uso diagnóstico *in vitro*.**

## PRINCÍPIO



A aspartato aminotransferase (AST/TGO) cataliza a transferência do grupo amino do aspartato para 2-oxoglutarato com a formação de oxalacetato e glutamato. O oxalacetato é reduzido a malato por ação da malato desidrogenase (MDH), e paralelamente a coenzima NADH é oxidada a NAD<sup>+</sup>. A coenzima NADH tem um coeficiente de absorção molar elevado em 340 nm, sendo quase nula a absorção de NAD em 340 nm. A oxidação de NADH é diretamente proporcional à atividade da AST/TGO. A atividade enzimática é então calculada através da diminuição da absorvância da solução de NADH em 340nm.

## METODOLOGIA

Cinético, ultravioleta.

## REAGENTES E APRESENTAÇÃO

### Reagentes

**Reagente 1:** Tris 121mmol/L, L-aspartato 362mmol/L, malato desidrogenase >460U/L, lactato desidrogenase >660U/L, pH 7,8.

**Reagente 2:** NADH 1,3mmol/L, 2-Oxoglutarato 75mmol/L.

### Apresentação

#### AST/TGO Cinética Ref.50 (NOVA APRESENTAÇÃO)

Reagente 1 5 x 8mL  
Reagente 2 5 x 2mL

#### AST/TGO Cinética Ref.100

Reagente 1 5 x 16mL  
Reagente 2 5 x 4mL

## NÚMERO DE TESTES

### AST/TGO Cinética Ref.50

Manual 50 testes  
Automação (\*) 200 testes

### AST/TGO Cinética Ref.100

Manual 100 testes  
Automação (\*) 400 testes

(\*) A quantidade de testes na automação é variável de acordo com o equipamento.

**Protocolos de automação encontram-se disponíveis no site Doles ou através do Serviço de Atendimento ao Consumidor.**

## EQUIPAMENTOS E MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro com leituras em 340nm, cubeta termostaticável, com 10mm de passagem de luz e banda espectral de 8nm ou menos.
- Pipetas graduadas
- Pipeta semiautomática de 100µL.
- Ponteiras descartáveis
- Cronômetro

## ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

**Reagente 1:** armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, se obedecidas as condições de armazenamento.

**Reagente 2:** armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, se obedecidas as condições de armazenamento.

**Reagente de Trabalho:** armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável por 02 meses após o preparo.

## CUIDADOS E PRECAUÇÕES COM O USO DOS REAGENTES

Os reagentes são somente para **uso diagnóstico *in vitro***. Seu manuseio deve ser cuidadoso, evitando-se contato com pele e mucosas. Em caso de contaminação acidental, lavar a parte afetada em água corrente. O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se aos critérios de biossegurança estabelecidos pelo laboratório, de acordo com as normas locais, estaduais ou federais.

Observar ainda a simbologia constante nos rótulos do produto:



Irritante

## AMOSTRA

Soro ou plasma. O uso de heparina, EDTA, oxalato e citrato não inibem a atividade da enzima.

Devido aos altos níveis de AST nos eritrócitos não utilizar amostras hemolisadas.

A atividade enzimática mantém-se inalterada por 4 dias, à temperatura de 2-8°C e 3 semanas a 10°C negativos.

**Todas as amostras biológicas devem ser consideradas como potencialmente infectantes.**

## PROCEDIMENTO TÉCNICO

### • Preparo do Reagente de Trabalho

**Opção 1:** Transferir todo o conteúdo do reagente 2 para o frasco de reagente 1 e homogeneizar. Armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável por 02 meses após o preparo.

**Opção 2:** Misturar 4mL do Reagente 1 com 1mL do Reagente 2 (não pipetar com a boca) e homogeneizar. Armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável por 02 meses após o preparo.

## Realização do teste

1. Transferir 1mL do reagente de trabalho para um tubo de ensaio e deixá-lo por alguns minutos à temperatura ambiente.
2. Adicionar 100µL da amostra ao reagente de trabalho e homogeneizar com ligeira agitação.
3. Transferir a solução para a cubeta termostaticada a 30°C/37°C (por aspiração em equipamentos dotados de cubeta de fluxo).
4. Esperar 1 minuto.
5. Fazer a leitura inicial em absorvância, disparando simultaneamente o cronômetro. Anotar o achado.
6. Repetir as leituras em intervalos de 1, 2 e 3 minutos.
7. Calcular a média das diferenças de absorvâncias por minuto ( $\Delta A/\text{minuto}$ ), utilizando-a para calcular o resultado.
8. Processando-se a reação enzimática a 30°C, o resultado encontrado pode ser expresso em temperatura de 37°C, multiplicando-se o valor encontrado por 1,59. Inversamente, valores a 37°C podem ser expressos a 30°C dividindo-se o valor encontrado por 1,59.

## CÁLCULO

AST U.I./L =  $\Delta A/\text{minuto} \times 1746$

Exemplo :

Leitura inicial (após 1 minuto de incubação) = 1.319

Leitura (1º minuto) = 1.279  $\Delta A = 1.319 - 1.279 = 0.040$

Leitura (2º minuto) = 1.239  $\Delta A = 1.279 - 1.239 = 0.040$

Leitura (3º minuto) = 1.199  $\Delta A = 1.239 - 1.199 = 0.040$

$$\Delta A/\text{minuto} = \frac{\Delta A \text{ 1º minuto} + \Delta A \text{ 2º minuto} + \Delta A \text{ 3º minuto}}{3}$$

$$\Delta A/\text{minuto} = \frac{0.040 + 0.040 + 0.040}{3} = 0.040$$

$$\text{AST U.I./L} = 0.040 \times 1746 = 69,8$$



## DETERMINAÇÃO DO FATOR

$$\text{AST (atividade U.I./L)} = \frac{\Delta A}{\text{min}} \times \frac{1}{6,3} \times \frac{1,1}{0,1} \times 1000 = \Delta A \times 1746$$

6,3 = absorção molar de NADH+ (um mmol de NADH+ em um mililitro de solução, cubeta de 10mm diâmetro interno, 340nm tem uma absorvância de 6,3).

1,1 = volume total da reação

0,1 = volume de soro

1000 fator / transformação de mililitro em litro.

## LINEARIDADE

A reação é linear até uma concentração, aproximada, de 350U.I./L o que corresponde a um  $\Delta A/\text{minuto de } 0,200$ .

**Sendo o  $\Delta A/\text{minuto}^3$  0,200**

diluir a amostra com solução fisiológica e repetir o teste. Multiplicar o valor encontrado pelo fator de diluição.

## LIMITAÇÕES DO SISTEMA

- Para se obter ótimo desempenho do sistema, é necessário que o procedimento técnico seja rigorosamente seguido conforme instruções de uso. Alterações no procedimento técnico podem levar a resultados errôneos.
- Se a absorvância do reagente de trabalho for inferior a 0,800, não utilizá-lo pois o mesmo está deteriorado.
- Valores elevados de AST podem ser encontrados em amostras hemolisadas.
- A dosagem de AST não deve ser utilizada para o diagnóstico de infarto agudo do miocárdio (IAM), para tal utilizar dosagens enzimáticas mais específicas tais como: CK, CK-MB.

## CONTROLE DA QUALIDADE DO SISTEMA

1. A limpeza e a secagem adequada do material a ser utilizado são de fundamental importância para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
2. As pipetagens devem ser precisas.
3. O uso de soro controle de referência deve ser uma prática rotineira do laboratório. Recomenda-se utilizar um soro controle com valor na faixa de normalidade (**soro controle N - Doles**) e outro soro controle de valor elevado (**soro controle P - Doles**).

## VALORES DE REFERÊNCIA

É recomendado que cada laboratório estabeleça sua própria faixa de valores de referência na população atendida.

Como orientação, sugerimos os seguintes valores:

8 – 22 UI/L (30°C)

12 – 42 UI/L (37°C)

## SIGNIFICADO CLÍNICO

A AST é uma enzima encontrada em altas concentrações no músculo cardíaco, músculos esqueléticos, hepatócitos e em menor escala no pâncreas e rins.

A dosagem de AST sérica está limitada, atualmente, ao estudo das hepatopatias.

Aumento de AST é encontrado nas hepatites virais agudas ou crônicas, hepatite por drogas, cirrose alcoólica, hemocromatose, icterícias hemolíticas e nos tumores primitivos ou metastáticos do fígado. Os níveis de AST sérica, raramente ultrapassam a 10 vezes os valores normais. A relação AST/ALT é inferior a 1 nas hepatites virais agudas e torna-se em geral superior a 1 nas hepatopatias crônicas como cirrose alcoólica, hepatite crônica progressiva e também na icterícia obstrutiva, hepatocarcinoma e nas metástases hepáticas.

## CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Foram realizados 40 dosagens em amostras cujos níveis de AST situavam-se no intervalo de 12,9 e 218 UI/L. As mesmas feitas em paralelo com o kit de AST Doles (Y) e um produto comercial com metodologia similar (ROCHE) (X) deram origem à seguinte equação de regressão linear:  $Y = 1,01X - 1,09$  sendo o coeficiente de correlação de 0,99.

**Repetitividade:** foram realizadas 20 dosagens sucessivas, com 2 amostras, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2
<b>Concentração (U.I./L)</b>	23,80	78,10
<b>Desvio padrão</b>	0,83	1,31
<b>Coefficiente de variação (%)</b>	3,49	1,68

**Reprodutibilidade:** foram realizadas 20 dosagens durante 20 dias consecutivos, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2
<b>Concentração (U.I./L)</b>	32,20	65,20
<b>Desvio padrão</b>	1,17	1,16
<b>Coefficiente de variação (%)</b>	3,63	1,78

**Especificidade:** a presente metodologia é específica para determinação de AST.

**Sensibilidade:** utilizando-se de um espectrofotômetro de alta resolução, cubetas 10mm de passagem de luz e a 30°C, a variação de 0,001 na absorvância corresponde a 1,75 U.I./L de AST.

## Substâncias interferentes:

- Certas drogas podem alterar os níveis de AST (ver Young D.S. et al., Clin. Chem. 21(5),1975 (Special issue).
- Não utilizar amostras hemolisadas, pois os eritrócitos são ricos em AST.

## BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- Kaplan, L.A., Pesce, A.J., Clinical Chemistry, 3ªed, 514 – 516, 1996.
- Pagana K.D., Pagana T.J., Diagnostic and Laboratory Test Reference, 78-80, 1992.
- Anderson S.C., Cockayne S., Clinical Chemistry Concepts and Applications, 240-262, 1993.
- Burtis, C.A., Ashwood, E.D., Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2ªed., 788-796, 1994.
- Henry, J.B., *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 268-280, 19ª edição, 1996.
- Tibúrcio, H.M.: *Controle interno da qualidade analítica*, 1ªed. março/1995.
- Doles: dados de arquivo.

## TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

As garantias do fabricante ao consumidor seguem estritamente as relacionadas na Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1.990 - **Código de Defesa do Consumidor**.

Todos os reagentes que compõem este sistema para diagnóstico são garantidos na sua performance, reprodutibilidade e qualidade até a data de vencimento dos mesmos, se obedecidas as condições abaixo:

1. O usuário do sistema seguir, rigorosamente, o procedimento técnico.
2. As condições de armazenamento deverão estar de acordo com o estabelecido nas instruções de uso.
3. Os materiais necessários e não fornecidos deverão estar em boas condições técnicas.

**Todos os produtos que apresentarem problemas técnicos comprovados serão substituídos, sem ônus para o consumidor.**

Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda.

CNPJ: 01.085.513/0001-05

Rodovia BR 153, Km 1273, Lt.07, Chácara Retiro

CEP: 74001-970 Goiânia - GO - Brasil

Caixa Postal 1051

e-mail: doles@doles.com.br

M.S.: nº 10231810069

Revisão: 15 (09/2009)

## NBR ISO 9001

**Sistema da Qualidade certificado desde 1999**

