

**Método**  
Cinético-UV

**Finalidade**

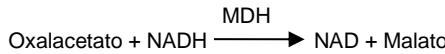
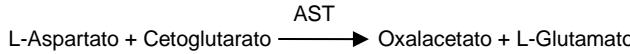
Sistema para a determinação da Aspartato Amino Transferase (AST) ou Transaminase Glutâmico Oxalacética (TGO) no soro ou plasma.

**Somente para uso diagnóstico in vitro.**

**Princípio**

A AST catalisa a transferência do grupo amina da alanina para o ceto glutarato com formação de glutamato e oxalacetato. O oxalacetato é reduzido a malato por ação da malato desidrogenase (MDH), enquanto que a coenzima NADH é oxidada a NAD.

A oxidação da coenzima NADH é diretamente proporcional à atividade da AST/TGO na amostra.



**Significado Clínico**

Elevações das transaminases ocorrem nas hepatites (viral e tóxica), na mononucleose, cirrose, colestase, carcinoma hepático primário ou metastático, pancreatite, traumatismo extenso e no choque prolongado. Nas hepatopatias agudas geralmente os valores de ALT excede o AST. O AST está quase sempre elevada após o infarto agudo do miocárdio. Esta começa a se elevar entre 6 e 12 horas após a dor precordial, alcançando o pico máximo entre 24 e 48 horas, retornando aos valores de referência após o 5º ou 6º dia. Deve-se ressaltar que a sensibilidade e especificidade da dosagem de AST no diagnóstico de infarto agudo do miocárdio são baixas, tornando a determinação desta enzima a menos indicada para este diagnóstico.

**Reagentes**

**Reagente nº 1 – Substrato** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Tampão Tris 120 mmol/L (pH 8,48), L-aspartato 360 mmol/L, MDH 460 U/L, LDH 660 U/L e Azida Sódica 0,1 g / dL.

**Reagente nº 2 – Coenzima** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: NADH 1,3 mmol/L, alfa-cetoglutarato 75 mmol/L e Azida Sódica 0,1 g / dL. (pH 10,0).

**Estabilidade, Condições de Armazenamento e Transporte**

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo do produto, quando conservados na temperatura recomendada (2 a 8°C), bem vedados e se evitado de contaminação durante o uso. Antes de serem abertos, os reagentes podem ser transportados em temperatura que não excede 30°C, até um limite de 120 horas. **Não congelar.**

**Cuidados Especiais e Precauções**

- As amostras a serem analisadas devem ser tratadas como material potencialmente infectante. Amostras lipêmicas e ictéricas elevam a absorbância. Neste caso diluir a amostra 1:2 com NaCl 0,85% e multiplicar o resultado por 2.
- Não utilizar os reagentes quando se apresentarem turvos.
- Utilizar os EPI's de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico.
- O Substrato (1) e a Coenzima (2) contêm azida sódica que é tóxica e irritante para pele e mucosa.
- As informações de Descarte, Segurança e Primeiros Socorros estão descritas na Ficha Individual de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) deste produto, disponível em [www.bioanalitica.com.br](http://www.bioanalitica.com.br) ou pelo telefone 0800 006 8111.
- Reagentes de lotes diferentes não devem ser misturados.
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada.
- Leituras de absorbância inferiores a 0,800 do Reagente de Trabalho, indicam perda do mesmo. Neste caso, não utilizar o reagente.
- Evitar deixar os reagentes fora das condições de armazenamento especificadas, quando os mesmos não estiverem em uso.
- O tempo de reação, pipetagens e temperatura de trabalho são muito importantes para obtenção de resultados corretos.
- Usar pipetas de vidro e ponteiras descartáveis específicas para cada amostra, controle, padrão/calibrador e reagente.

**Materiais Necessários e Não Fornecidos**

- Analizador bioquímico automático e/ou semiautomático;
- Pipetas de vidro e/ou automáticas;
- Ponteiras;
- Tubos de ensaio;

• Cronômetro.

**Amostra**

Soro ou plasma (EDTA/Heparina). O analito é estável por 4 dias entre 2 e 8°C e 2 meses a 20°C negativos, quando livres de contaminação.

Para descarte dos reagentes e materiais biológicos devem-se seguir as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

**Interferências e Limitações**

O alcoolismo crônico aumenta consideravelmente a atividade da AST/TGO. O uso de esteroides anabólicos, clorotiazida, cloranfenicol, uso prolongado de aspirina, gentamicina e algumas outras drogas podem elevar a atividade da AST/TGO.

Concentrações de bilirrubina até 43,2 mg/dL, triglicérides até 1216 mg/dL e hemoglobina até 200 mg/dL não produzem interferências significativas. Valores de ácido ascórbico maior que 4,0 mg/dL produzem interferências significativas nas amostras.

**Procedimento Técnico**

**Preparo do Reagente de Trabalho**

Misturar 4 partes do Reagente nº 1 com 1 parte do Reagente nº 2. O Reagente de Trabalho é estável 72 horas entre 15 e 30°C e 14 dias entre 2 e 8°C.

**Equipamentos Automáticos**

Para uso em analisadores automáticos, verificar o protocolo de automação no site [www.bioanalitica.com.br](http://www.bioanalitica.com.br) ou através do SAC.

**Nota:** Recomendamos o uso do Calibrador – Ref. BA052 para calibração. Para avaliar a precisão das dosagens, recomendamos o uso do Controle N – Ref. BA115 e Controle P – Ref. BA118.

**Procedimento do Teste**

Adicionar 100 µL de amostra a 1,0 mL do Reagente de Trabalho, homogeneizar e transferir imediatamente para cubeta termostatizada à 37°C e esperar 1 minuto. Fazer a leitura inicial, disparando simultaneamente o cronômetro. Repetir as leituras após 1, 2 e 3 minutos. Calcular a média das diferenças de absorbância por minuto ( $\Delta A/min.$ ) e utilizar para cálculo do resultado.

**Cálculos e Exemplo**

O método cinético baseia-se na absorvidade molar. Por essa razão, as leituras devem ser realizadas em um espectrofotômetro que cumpra as seguintes condições:

Comprimento de onda 340 nm

Banda de passagem  $\leq 2$  nm

Luz espúria menor que  $\leq 0,1\%$

Cubeta de 1,0 cm de espessura interna, termostatizada a 37°C.

Atendendo essas condições, pode se optar pela utilização do fator teórico 1746.

$\Delta A/min$  = Variação média da absorbância por minuto

**Exemplo:**

$\Delta A/min$  do teste = 0,021

Atividade AST em U/L =  $\Delta A$  teste X 1746

Atividade AST = 0,021 X 1746 = 37 U/L

Os resultados deverão ser expressos em U/L.

**Nem sempre é possível trabalhar sob essas condições, por isso recomendamos a utilização do Calibrador – Ref. BA052.**

**Características do Desempenho**

**Comparação de Métodos**

O método foi comparado com outro produto com metodologia semelhante através de 40 amostras de soro humano. Através de modelos estatísticos, os resultados foram analisados e resultaram na equação de regressão linear onde Método Bioanalítica ( $y$ ) = 4,200 + 0,878 \* Método comparativo ( $x$ ) e coeficiente de correlação igual a 0,991.

**Sensibilidade**

Uma amostra proteica não contendo AST/TGO, foi utilizada para calcular o limite de detecção do ensaio. A média encontrada foi 0,8000 U/L equivalente a 20 determinações, com desvio padrão de 0,1204 U/L.

A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde à média mais 3 vezes o desvio padrão, que é igual a 1,1611 U/L.

### Linearidade

A reação é linear até 400 U/L. Para amostras com valores acima de 400 U/L, diluir a amostra com Cloreto de Sódio 0,85%, repetir a dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

### Repetitividade

A repetitividade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração média (U/L)	9,46	28,26	92,65
Desvio padrão (U/L)	0,31	0,43	1,48
Coeficiente de Variação (%)	3,24	1,52	1,60

### Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas durante 20 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração média (U/L)	6,45	27,88	64,65
Desvio padrão (U/L)	0,42	1,33	1,79
Coeficiente de Variação (%)	6,58	4,78	2,77

### Valores de Referência

Estes valores de referência devem ser usados apenas como orientação. Sugere-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores para população atendida. Os resultados dos testes devem ser analisados por um profissional responsável.

Idade	Masculino (U/L)	Feminino (U/L)
1 - 7 dias	26 - 98	20 - 93
8 - 30 dias	16 - 67	20 - 69
1 - 6 meses	16 - 62	16 - 61
7 - 12 meses	16 - 52	16 - 60
1 - 3 anos	16 - 57	16 - 57
4 - 6 anos	10 - 47	10 - 47
7 - 15 anos	10 - 41	5 - 36
Adultos	11 - 39	10 - 37

Para converter os valores de U/L (SI) multiplicar por 16,7.

### Controle Interno da Qualidade

O laboratório clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, para assegurar que todos os procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente definidos. Ressaltamos que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica, que deve ser monitorada pelos laboratórios. Portanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens. Sugere-se utilizar soluções estabilizadas da linha de controles e calibradores da Bioanalítica.

### Observações

- A limpeza e secagem adequadas do material usado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes. A limpeza da vidraria deve ser feita com detergente neutro. O enxágue deve ser exaustivo sendo os últimos com água destilada ou deionizada.
- A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, a água deve ser do Tipo II, com resistividade > 1 megaohms/cm ou condutividade < 1 microsiemens/cm e concentração de silicatos < 0,1 mg/L. Para o enxágue inicial da vidraria, a água pode ser do Tipo III, com resistividade > 0,1 megahoms ou condutividade < 10 microsiemens. No enxágue final, utilizar água do Tipo II. Coluna deionizadora com sua capacidade saturada libera água alcalina, vários íons e também substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando de maneira imprevisível os resultados. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

### Referências Bibliográficas

- 1 - Bergmeyer HV; Scheibe P.; Wahlefeld A.W., Clin., Chem., 1.978, 24, 58.
- 2 - Westgard JO, Groth T. Clin. Chem. 1981; 27:493-501.
- 3 - Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Fundamento de Química Clínica, 4<sup>a</sup> Ed - Guanabara Koogan SA; 1998.
- 4 - IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. J Clin Chem Clin Biochem 1986; 24:497-510.
- 5 - Scandinavian Committee on Enzymes Scand J. Clin Lab Invest, 1.981, 41, 107 - 116.
- 6 - Karmen A. J Clin Invest 1955; 34:131.
- 7 - Henry RJ, Chiamori N, Golub O, Berkman S. Amer J Clin Path 1960;34:381.
- 8 - Soldin SJ, Brugnara C, Wong EC, Pediatric Reference Intervals, 5.ed. Washington: AACC Press, 2005.p.3-4.
- 9 - Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2.ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1994. p. 788-96.
- 10 - Bioanalítica: Dados internos de arquivo do P&D.

### Termos e Condições de Garantia

A Bioanalítica Diagnóstica garante o desempenho e a qualidade deste produto, dentro das especificações, até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que utilizados, armazenados e transportados nas condições adequadas.

### Apresentações

Ref.	Volume	Reagente 1	Reagente 2
BA367-50	50 mL	1 x 40 mL	1 x 10 mL
BA367-100	100 mL	2 x 40 mL	2 x 10 mL
BA367-200	200 mL	4 x 40 mL	4 x 10 mL

### Bioanalítica Diagnóstica S/A.

Rua Álvares da Silva, 12 - União  
CEP: 31160-360 – Belo Horizonte MG - Brasil  
Tel. +55 31 3657-0051  
www.bioanalitica.com.br  
E-mail: bioanalitica@bioanalitica.com.br  
CNPJ: 20.264.948/0001-61 – Indústria Brasileira  
SAC: 0800 006 8111  
E-mail: sac@bioanalitica.com.br

Revisão: Outubro / 2022.