

AST/GOT Liquiform

Instruções de Uso

Ref.: **109**
MS 10009010018

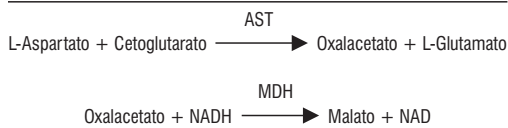
Finalidade . Sistema para determinação da Aspartato Amino Transferase (AST) ou Transaminase Glutâmico Oxalacética (GOT) em modo cinético.

Uso profissional.

[Somente para uso diagnóstico in vitro.]

Princípio . A AST catalisa especificamente a transferência do grupo amina do ácido aspártico para o cetoglutarato 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 redução da absorbância em 340 nm, consequente à oxidação da coenzima NADH, é monitorada fotometricamente, sendo diretamente proporcional à atividade da AST na amostra.



Características do sistema . A metodologia cinética-UV para medição da atividade da AST foi introduzida por Karmen¹, sendo posteriormente otimizada por Henry e colaboradores² e o procedimento de medição ganhou aceitação mundial por ser rápido, preciso e exato.

O método de referência proposto pela *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (IFCC)³ recomenda a utilização do piridoxal fosfato para assegurar que toda transferase presente no soro esteja totalmente ativa, evitando assim, resultados falsamente diminuídos em amostras com deficiência da coenzima. O sistema Labtest está otimizado para atender a essas recomendações.

Para obtenção de resultados rastreáveis ao método de referência IFCC, é necessário utilizar o procedimento bi-reagente com a ativação pelo piridoxal fosfato (Reagente 3). Quando se aplica o procedimento mono-reagente não se utiliza a ativação com piridoxal fosfato. Portanto, os resultados obtidos não são rastreáveis ao método de referência da IFCC.

Os componentes da reação se encontram distribuídos adequadamente em três reagentes para conferir maior estabilidade na forma líquida original e manutenção das condições ótimas da reação.

O sistema AST/GOT da Labtest utiliza medições em modo cinético e pode ser facilmente aplicado em analisadores automáticos e semiautomáticos capazes de medir absorbância em 340 nm.

Metodologia . Cinética UV-IFCC.

Reagentes

1. [R1] - Reagente 1 - Armazenar entre 2-8°C.

Contém Tampão Tris 105 mmol/L; L-aspartato 330 mmol/L; MDH ≥ 825 U/L; LDH ≥ 1200 U/L e azida sódica 0,095%.

2. [R2] - Reagente 2 - Armazenar entre 2-8°C.

Contém Tampão Tris 20 mmol/L; NADH 1320 μ mol/L; α -cetoglutarato 66 mmol/L e azida sódica 0,095%.

3. [R3] - Reagente 3 - Armazenar entre 2-8°C.

Contém Tris 20 mmol/L; piridoxal fosfato 11,1 mmol/L; azida sódica 0,095%.

Os reagentes não abertos, quando armazenados nas condições indicadas, são estáveis até a data de expiração impressa no rótulo. Após abertos, os reagentes devem ser manuseados de acordo com as boas práticas de laboratório para evitar contaminações de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

Precauções e cuidados especiais

Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente. Não utilizar os reagentes quando a absorbância do reagente de trabalho ou da mistura Reagente 1, Reagente 2 e Reagente 3, medida contra água em 340 nm, for menor que 1,0 ou quando os reagentes estiverem turvos ou com sinais de contaminação.

Nos analisadores automáticos, os reagentes estão sujeitos a contaminações com outros reagentes ou com o ar ambiente, que dependem da característica do equipamento e das condições de trabalho. Essas contaminações podem resultar em redução da estabilidade dos reagentes ou modificações no seu desempenho, requerendo nova calibração do sistema.

Como ocorre em toda medição da atividade enzimática, a rigorosa observação do tempo e da temperatura de incubação é de grande importância para a qualidade dos resultados obtidos.

Os reagentes contêm azida sódica que é tóxica. Não ingerir e, no caso de contato com os olhos, lavar imediatamente com grande quantidade de água e procurar auxílio médico. A azida pode formar compostos altamente explosivos com tubulações de chumbo e cobre. Portanto, utilizar grandes volumes de água para descartar os reagentes.

Material necessário e não fornecido

1. Fotômetro com cubeta termostatzada capaz de medir com exatidão a absorbância em 340 nm.
2. Pipetas para medir amostras e reagentes.
3. Cronômetro.

Influências pré-analíticas . O alcoolismo crônico aumenta a atividade da AST em 18 a 100%.

Esteróides anabolizantes, cloranfenicol, clorotiazida, uso prolongado de aspirina, gentamicina, entre outras drogas, podem provocar um aumento da atividade da AST.

Amostra

Deve ser criado um Procedimento Operacional Padrão (POP) que estabeleça procedimentos adequados para coleta, preparação e armazenamento da amostra. Enfatizamos que os erros devidos à amostra podem ser muito maiores que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

Usar soro ou plasma (EDTA, Heparina). A atividade enzimática permanece estável durante 4 dias entre 2-8°C e 2 semanas a 10°C negativos.

Como nenhum teste conhecido pode assegurar que amostras de sangue não transmitem infecções, todas elas devem ser consideradas como potencialmente infectantes. Portanto, ao manuseá-las, devem-se seguir as normas estabelecidas para biossegurança.

Para descartar os reagentes e o material biológico sugerimos aplicar as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

Interferências

Valores de bilirrubina até 19 mg/dL, hemoglobina até 45 mg/dL, triglicérides até 650 mg/dL e piruvato até 0,2 mmol/L não produzem interferências significativas.

Como a enzima AST está presente nos eritrócitos, a presença de hemoglobina no soro em quantidades superiores a 45 mg/dL produz interferência positiva significativa.

Para avaliar a concentração aproximada da hemoglobina em uma amostra hemolisada pode-se proceder do seguinte modo: Diluir 0,05 mL da amostra em 2,0 mL de NaCl 150 mmol/L (0,85%) e medir a absorbância em 405 ou 415 nm acertando o zero com água deionizada ou destilada.

$$\text{Hemoglobina (mg/dL)} \cong \text{Absorbância}_{405} \times 601$$

$$\text{Hemoglobina (mg/dL)} \cong \text{Absorbância}_{415} \times 467$$

Amostras fortemente lipêmicas e ictericas possuem absorbância elevada em 340 nm. Quando a atividade enzimática nessas amostras estiver muito aumentada, pode ocorrer consumo bastante rápido do substrato sem haver diminuição significativa na absorbância.

Portanto, na ocorrência de valores baixos de atividade enzimática nessas amostras deve-se repetir a determinação utilizando amostra diluída com NaCl 0,85%.

Procedimento

Ver **Ítem Cálculo, Calibração, Linearidade e Observações**.

Determinação da Atividade Enzimática Utilizando o Piridoxal Fosfato

Para obtenção de resultados rastreáveis ao método de referência IFCC, é necessário utilizar o procedimento bi-reagente, para que a enzima seja totalmente ativada pelo piridoxal fosfato.

Preparo do reagente . Transferir 0,300 mL do Reagente 3 para um frasco do Reagente 1 (24 mL) e homogeneizar suavemente. Estabilidade: 21 dias entre 2-8°C e 24 horas entre 15-25°C quando não houver contaminação química ou microbiana. Anotar a data de expiração. Opcionalmente pode-se preparar um volume menor da mistura (Reagente 1 + Reagente 3) adicionando-se 1 parte do Reagente 3 a 80 partes do Reagente 1 (exemplo: adicionar 0,010 mL do Reagente 3 a 0,800 mL do Reagente 1).

Procedimento do teste

1. Em um tubo rotulado “Teste” ou “Calibrador”, pipetar 0,800 mL da mistura Reagente 1 + Reagente 3.

2. Adicionar 0,100 mL de amostra ou calibrador de enzimas, homogeneizar e incubar em banho- maria a $37 \pm 0,2^\circ\text{C}$ por 5 minutos. Após essa incubação, pode-se esperar até 30 minutos para iniciar a medição cinética com a adição do reagente 2.

3. Ajustar o zero do fotômetro em 340 nm com água destilada ou deionizada.

4. Adicionar 0,200 mL do Reagente 2, homogeneizar e transferir imediatamente para a cubeta termostatzada a $37 \pm 0,2^\circ\text{C}$. Esperar 1 minuto.

5. Registrar a absorbância inicial (A_1) e disparar simultaneamente o cronômetro. Após 2 minutos registrar a absorbância (A_2).

Para verificar a linearidade da reação, registrar a absorbância com intervalos de 1 minuto e verificar se a diferença de absorbância a cada minuto é equivalente.

Determinação da Atividade Enzimática sem a Utilização do Piridoxal Fosfato

Preparo do reagente de trabalho . Transferir o conteúdo de um frasco do Reagente 2 para um frasco do Reagente 1 e homogeneizar suavemente. O reagente de trabalho é estável 10 dias entre 2-8°C e 24 horas 15-25°C quando não houver contaminação química ou microbiana. Anotar a data de expiração.

Sistemas automáticos

Branco de reagentes: água deionizada ou solução de cloreto de sódio 150 mmol/L (0,85%);

Usar calibradores da linha Calibra - Labtest que têm atividades da AST rastreáveis ao método de referência da IFCC³.

Intervalo de calibrações

Calibração de 2 ou 3 pontos ao mudar de lote;
Calibração de 2 ou 3 pontos quando o controle interno da qualidade indicar.

Linearidade

O resultado da medição é linear entre 3,5 a 400 U/L. Para valores maiores, diluir a amostra com NaCl 150 mmol/L (0,85%), realizar nova medição e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição. Diluir a amostra de tal modo que o valor encontrado se situe entre 50 e 200 U/L. Sugerimos a verificação da linearidade metodológica e fotométrica, no mínimo semestralmente, utilizando amostras com atividades até 400 U/L.

Controle interno da qualidade . O laboratório deve manter um programa de controle interno da qualidade que defina claramente os regulamentos aplicáveis, objetivos, procedimentos, critérios para especificações da qualidade e limites de tolerância, ações corretivas e registro das atividades. Materiais de controle devem ser utilizados para monitorizar a imprecisão da medição e desvios da calibração. Sugere-se que as especificações para o coeficiente de variação e erro total sejam baseadas nos componentes da variação biológica (VB)^{4,5,6}.

Intervalo de referência⁷ . Estes valores devem ser usados apenas como orientação. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência na população atendida.

Idade	Masculino (U/L)	Feminino (U/L)
01-07 dias	26-98	20-93
08-30 dias	16-67	20-69
01-06 meses	16-62	16-61
07-12 meses	16-52	16-60
01-03 anos	16-57	16-57
04-06 anos	10-47	10-47
07-15 anos	10-41	05-36
Adultos	11-39	10-37

Conversão: Unidades Convencionais (U/L) x 16,7 = Unidades SI (nkat/L).

Características do desempenho⁸

Estudos de recuperação . Em duas amostras com concentrações da aspartato amino transferase iguais a 162 e 261 U/L foram adicionadas quantidades da enzima obtendo-se os seguintes resultados:

Atividade (U/L)					Recuperação (%)
Inicial	Adicionada	Esperada	Encontrada		
162	46	208	207		99,5
261	46	307	307		100,0

O erro sistemático proporcional médio estimado é igual a 0,2 U/L para o nível de decisão 77 U/L e 0,7 U/L para o nível de decisão 285 U/L.

Estudos de comparação de métodos . O método proposto foi comparado com o método de referência da IFCC³, sendo obtidos os seguintes resultados:

Testes realizados com piridoxal fosfato

	Método Comparativo	Método Labtest
Número de amostras	40	40
Intervalo de concentrações (U/L)	17,4-296,6	18,8-287,4
Média das estimativas (U/L)	116,7	115,5
Equação da regressão	Método Labtest = 0,995 x Método Comparativo - 0,547	
Coefficiente de correlação	0,999	

Utilizando a equação da regressão, o erro sistemático total (bias) estimado é igual a 1,2% para um nível de decisão igual a 77 U/L e 0,7% para um nível de decisão igual a 312 U/L. Esses erros são menores que o erro sistemático analítico da especificação desejável baseada na variação biológica que é $\leq \pm 5,4\%$.

Testes realizados sem piridoxal fosfato

	Método Comparativo	Método Labtest
Número de amostras	40	40
Intervalo de concentrações (U/L)	17,4-291,1	22,0-278,2
Média das estimativas (U/L)	113,5	109,5
Equação da regressão	Método Labtest = 0,954 x Método Comparativo + 1,147	
Coefficiente de correlação	0,997	

Utilizando a equação da regressão, o erro sistemático total (bias) estimado é igual a 3,1% para um nível de decisão igual a 77 U/L e 4,2% para um nível de decisão igual a 285 U/L. Esses erros são menores que o erro sistemático analítico da especificação desejável baseada na variação biológica que é $\leq \pm 5,4\%$.

Estudos de precisão . Os estudos de precisão foram realizados no sistema Labtest/Labmax 240®, utilizando amostras com valores de atividade iguais a 77 e 312 U/L para o procedimento com piridoxal fosfato e 77 e 285 U/L para o procedimento sem piridoxal fosfato.

Testes realizados com piridoxal fosfato

Repetitividade - imprecisão intraensaio

	N	Média	DP (U/L)	CV (%)
Amostra 1	20	77	1,71	2,2
Amostra 2	20	312	2,69	0,9

Reprodutibilidade - imprecisão total

	N	Média	DP (U/L)	CV (%)
Amostra 1	20	77	1,58	2,1
Amostra 2	20	312	6,85	2,2

Testes realizados sem piridoxal fosfato

Repetitividade - imprecisão intraensaio

	N	Média	DP (U/L)	CV (%)
Amostra 1	20	77	1,56	2,0
Amostra 2	20	285	2,25	0,8

Reprodutibilidade - imprecisão total

	N	Média	DP (U/L)	CV (%)
Amostra 1	20	77	3,05	4,0
Amostra 2	20	285	7,83	2,8

A imprecisão total obtida para as amostras atende a especificação desejável para imprecisão total baseada na variação biológica que é ≤5,4%.

Estimativa do erro total . O erro total (erro aleatório + erro sistemático) estimado no valor de 77 U/L é igual a 4,6% e no valor de 312 U/L é igual a 4,3% nos testes realizados com piridoxal fosfato. Para os testes realizados sem piridoxal fosfato o erro total estimado no valor de 77 U/L é igual a 9,6% e no valor de 285 U/L é igual a 8,7%. Os resultados indicam que o método atende à especificação desejável para erro total (≤15,2%) baseada nos componentes da Variação Biológica (VB).

Sensibilidade metodológica . Utilizando-se como parâmetro a absorbância mínima detectável, a sensibilidade fotométrica é de 1,75 U/L, correspondendo a uma absorbância igual a 0,001.

Efeitos da diluição da matriz . Duas amostras com valores iguais a 372 e 425 U/L foram utilizadas para avaliar a resposta do sistema nas diluições da matriz com NaCl 150 mmol/L (0,85%). Usando fatores de diluição que variaram de 2 a 16 foi encontrada recuperação média 100,1%.

Significado clínico⁹ . 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 o valor da transaminase pirúvica (ALT) excede o da oxalacética (AST).

A AST está quase sempre elevada após o infarto agudo do miocárdio. Esta começa a se elevar 6 a 12 horas após a dor precordial, alcançando o pico máximo entre 24 a 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 do infarto agudo do miocárdio são baixas, tornando a determinação desta enzima a menos indicada para este diagnóstico.

Várias drogas comumente usadas encontram-se relacionadas ao aumento da AST dentre elas: isoniazida, fenotiazinas, clorotiazida, gentamicina, eritromicina, cloranfenicol, progesterona, esteróides anabolizantes, opiáceos, indometacina, halotano, metildopa e uso prolongado de aspirina. A uremia encontra-se associada com a redução da atividade da AST.

Observações

1. A limpeza e secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para a 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 megaohm.cm ou condutividade ≤1 microsiemens/cm 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. Quando a coluna deionizadora está com sua capacidade saturada ocorre a produção de água alcalina com liberação de vários íons, silicatos e substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando os resultados de modo imprevisível. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

3. Para uma revisão das fontes fisiopatológicas e medicamentosas de interferência nos resultados e na metodologia sugere-se consultar <http://www.fxol.org>.

Referências

1. Karmen A. J Clin Invest 1955; 34:131.
2. Henry RJ, Chiamori N, Golub O, Berkman S. Amer J Clin Path 1960; 34:381.
3. IFCC Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Concentration of Aspartate Aminotransferase. Clin Chem Lab Med 2002; 40 (7):725-33.
4. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, Base de Datos de Variación Biológica. Disponível em: <<http://www.seqc.es/article/articleview/330/1/170>> (acesso em 04/2006).
5. Basques JC. Especificações da Qualidade Analítica. Labtest Diagnóstica 2005.
6. Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T. Clin Chem 1981; 27:493-501.
7. Soldin SJ, Brugnara C, Wong EC. Pediatric Reference Intervals, 5.ed. Washington: AACC Press, 2005. p. 39-40.
8. Labtest: Dados de arquivo.
9. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2.ed., Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1994. p. 788-96.

Apresentação

Produto	Referência	Conteúdo	
AST/GOT Liquiform	109-4/30	 4 X 24 mL	
		 4 X 6 mL	
		 1 X 1,5 mL	
	109-2/100	 2 X 80 mL	
		 2 X 20 mL	
		 1 X 2,2 mL	
AST/GOT Labmax 560/400	109-4/49	 4 X 39 mL	
		 4 X 10 mL	
		 1 X 2,5 mL	

Estão disponíveis aplicações para sistemas automáticos e semiautomáticos.

O número de testes em aplicações automáticas depende dos parâmetros de programação.

Informações ao consumidor

[Termos e Condições de Garantia]

A Labtest Diagnóstica garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções sejam seguidos corretamente.



Labtest Diagnóstica S.A.

CNPJ: 16.516.296 / 0001 - 38
Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - Vista Alegre - CEP 33400-000
Lagoa Santa - Minas Gerais Brasil - www.labtest.com.br

Serviço de Apoio ao Cliente | 0800 031 34 11 (Ligação Gratuita)
e-mail: sac@labtest.com.br

Revisão: Fevereiro, 2014
Ref.: 260117

Copyright by Labtest Diagnóstica S.A.
Reprodução sob prévia autorização

Símbolos utilizados com produtos diagnósticos in vitro

Símbolos usados con productos diagnósticos in vitro . Symbols used with ivd devices

	Conteúdo suficiente para < n > testes Contenido suficiente para < n > tests Contains sufficient for < n > tests		Consultar instruções de uso Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use		Controle Control Control		Tóxico Tóxico Poison
	Data limite de utilização (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa) Estable hasta (aaaa-mm-dd o mm/aaaa) Use by (yyyy-mm-dd or mm/yyyy)		Número do catálogo Número de catálogo Catalog Number		Controle negativo Control negativo Negative control		Reagente Reactivo Reagent
	Material Calibrador Material Calibrador Calibrator Material		Adições ou alterações significativas Cambios o suplementos significativos Significant additions or changes		Controle positivo Control positivo Positive control		Fabricado por Elaborado por Manufactured by
	Material Calibrador Material Calibrador Calibrator Material		Produto diagnóstico in vitro Dispositivo de diagnóstico in vitro In vitro diagnostic device		Controle Control Control		Número do lote Denominación de lote Batch code
	Limite de temperatura (conservar a) Temperatura limite (conservar a) Temperature limitation (store at)		Liofilizado Liofilizado Lyophilized		Risco biológico Riesgo biológico Biological risk		Período após abertura Periodo post-abertura Period after-opening
	Representante Autorizado na Comunidade Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community		Corrosivo Corrosivo Corrosive		Marca CE Marcado CE CE Mark		Uso veterinário Uso veterinario Veterinary use
	Instalar até Instalar hasta Install before						

Ref.: 140214 |