



## INSTRUÇÕES DE USO (Versão Abr/18)

# AST/TGO

## Método Cinético UV

### FINALIDADE

O conjunto Transaminase AST/TGO UV é um sistema que se destina à determinação da Aspartato Amino Transferase (AST) no soro ou plasma animal. Exclusivo para uso em diagnóstico "in vitro".

### PRINCÍPIO DE AÇÃO

A determinação das transaminases por métodos enzimáticos combina a elevada especificidade de ação das enzimas com a simplicidade operacional envolvida. No presente método, a AST cataliza a transferência do grupo amino do aspartato para o  $\alpha$ -cetoglutarato com formação de glutamato e oxalacetato. Este, sob a ação da Desidrogenase málica (MDH), é convertido em malato. Simultaneamente, o NADH presente é oxidado a NAD. A velocidade de diminuição da concentração de NADH no meio pode ser seguida espectrofotometricamente em 340 nm, sendo proporcional à concentração de AST na amostra. O sistema contém também a enzima desidrogenase láctica, visando a eliminação da interferência de cetoácidos endógenos.

### SIGNIFICADO CLÍNICO

A aspartato amino transferase (glutamato-oxaloacetato-transaminase) pertence ao grupo das transaminases que catalisam a interconversão dos aminoácidos e  $\alpha$ -cetoácidos através da transferência de grupos amino. A aspartato amino transferase encontra-se vulgarmente distribuída nos tecidos do organismo. Embora a maior atividade da enzima seja registrada no músculo cardíaco, é também possível detectar uma atividade significativa no cérebro, fígado, mucosa gástrica, tecido adiposo, musculatura esquelética e rins.

Além de estar presente no citoplasma, a AST existe igualmente nos citoplasmas e nas mitocôndrias das células. Em lesões tissulares ligeiras, a forma predominante de AST é a dos citoplasmas, com uma quantidade mais reduzida a ser libertada pelas mitocôndrias. Nos casos de lesões tissulares mais graves, observa-se a libertação de uma maior quantidade de enzimas ligadas às mitocôndrias. Níveis elevados de transaminases são indicadores de enfarte do miocárdio (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), hepatopatias, distrofia muscular e lesões dos órgãos internos. Várias drogas comumente usadas encontram-se relacionadas ao aumento da AST dentre elas: isoniazida, fenotiazinas, clorotiazida, gentamicina, eritromicina, cloranfenicol, progesterona, esteroides anabolizantes, opiáceos, indometacina, halotano, metildopa e uso prolongado de aspirina.

### REAGENTES

#### Apresentação com 125 mL:

- Tampão:** 2 frascos com 50 mL cada, de solução tampão TRIS 100 mmol/L em pH 7,5, L-alanina 500 mmol/L, aspartato desidrogenase  $\geq 600$ U/L, lactato desidrogenase  $\geq 1.200$  U/L e azida sódica 0,1 g/L. Conservar entre 2-8°C.
- Reagente Enzimático:** 2 frascos com 12,5 mL cada, de solução contendo NADH 0,18 mmol/L,  $\alpha$ -cetoglutarato 15 mmol/L, e azida sódica 15,5 mmol/L. Conservar entre 2-8°C.

### MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

Espectrofotômetro  
Centrífuga  
Banho-maria  
Cronômetro  
Vidraria  
Pipetas manuais ou automáticas  
Água destilada ou deionizada

### CUIDADOS NO ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DOS REAGENTES

Antes de serem abertos, os reagentes podem ser transportados em temperaturas na faixa de 15 - 25°C, até um limite de 48 horas.

As datas de fabricação e validade aparecem no rótulo da embalagem. Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado. Todos os reagentes devem ser mantidos sob refrigeração, na faixa de 2 - 8°C. Não congelar. Manter ao abrigo da luz. Os reagentes devem permanecer fora do refrigerador apenas o tempo necessário para as dosagens.

### PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- Somente para uso diagnóstico "in vitro".
- Evitar contaminação com íons metálicos ou agentes oxidantes. O espectrofotômetro ou mesmo equipamentos automatizados devem ficar livres de contaminação microbiana, ser calibrados corretamente e receber manutenção de acordo com as instruções do fabricante.
- Não misturar ou trocar diferentes lotes de reagentes. Evitar contaminação microbiana dos reagentes e não utilizar reagentes que tenham sinais de contaminação ou precipitação.
- Usar pipetas de vidro e ponteiros descartáveis separadas para cada amostra, controle (se utilizado) e reagente e não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada, o que poderia causar resultados errôneos. 5. Não dispensar os reagentes em tubulação contendo ferro galvanizado.
- Os reagentes contêm azida sódica, irritante para pele e mucosas. Caso haja contato com quaisquer desses reagentes, lavar imediatamente a área afetada com água em profusão. Em caso de ingestão acidental, procurar auxílio médico imediato.
- Não comer, beber, fumar, armazenar ou preparar alimentos, ou aplicar cosméticos dentro da área de trabalho onde reagentes e amostras estiverem sendo manuseados.
- Usar luvas descartáveis quando manusear amostras clínicas ou reagentes.
- Lavar sempre as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.
- As amostras devem ser descartadas, após o uso, em recipientes específicos.
- Não dispensar em coletores de lixo comuns ou nas redes de água e esgotos.
- Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante.

### AMOSTRA

#### Soro ou plasma (EDTA ou Heparina).

Sob refrigeração (2-8°C), a AST no soro ou plasma é estável por 4 dias e duas semanas a -10°C.

*Nota: Cerca de 10% da atividade da AST perdem-se a cada cinco dias quando a amostra é armazenada a 4°C, ou em um dia a 25°C. Portanto, sempre que possível, preparar e analisar a amostra no dia da coleta.*

### PROCEDIMENTO

**Preparo do Reagente de Trabalho:** Adicionar **4 (quatro) partes** do conteúdo do frasco de **Tampão (1)** com **1 (uma) parte** do conteúdo do frasco de **Reagente Enzimático (2)** e homogeneizar bem. Este reagente é **estável 14 dias**, se mantido fora da geladeira apenas o tempo necessário para as dosagens. Desprezar o Reagente de Trabalho caso sua absorvância em 340nm, medida contra a água, for inferior a 1,00.

#### Dosagem (Soro ou Plasma):

Condições para os testes	
Temperatura de trabalho	37°C $\pm$ 0,5 °C
Comprimento de onda	340 nm

- Pré-aquecer o Reagente de Trabalho durante 2 minutos a 37°C.
- Acertar o zero do aparelho com água destilada.
- Pipetar em um tubo de ensaio

Volume	
Reagente de Trabalho	1000 $\mu$ L
Amostras	100 $\mu$ L

4-Homogeneizar e transferir para uma cubeta termostatzada a 37°C. Acionar o cronômetro.

5- Após 90 segundos, anotar a absorvância inicial  $A_0$  e efetuar novas leituras após 1, 2, 3 minutos (A1, A2 e A3 respectivamente). A média das diferenças entre as leituras,  $\Delta A$  média, será usada nos cálculos abaixo.

### CÁLCULOS

AST/GOT (U/L) =  $\Delta A$  médio x 1746

#### Exemplo:

Abs. inicial = 1,740; A1 = 1,730; A2 = 1,718; A3 = 1,707.

$\Delta A_1 = 0,010$ ;  $\Delta A_2 = 0,012$ ;  $\Delta A_3 = 0,011$ .  **$\Delta A$  médio = 0,011**

AST/GOT (U/L) =  $0,011 \times 1746$

AST/GOT (U/L) = 19,2

### VALORES DE REFERÊNCIA

Valor Referência (37°C)	
Machos	até 38 U/L
Fêmeas	até 31 U/L

### LINEARIDADE

A reação é linear até valores 440 U/L. Se o valor de  **$\Delta A$  médio** for igual ou maior a 0,200 em 340 nm, diluir a amostra com solução de NaCl 0,85% e repetir a dosagem. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

## DADOS ESTATÍSTICOS DE DESEMPENHO DO TESTE

**Sensibilidade:** 100%.

**Exatidão:** A comparação com método similar, já validado, mostrou um coeficiente de correlação,  $r$  igual a 0,99 a partir de amostras aleatórias oriundas de pacientes de ambulatório. A equação de regressão obtida foi :  $Y = 0,964x + 0,139$  que demonstra uma exatidão de 99%.

**Precisão:**

**Repetibilidade:** A realização de 20 determinações de uma amostra com valor dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados.

Repetibilidade	Amostra
Média	17
Desvio Padrão	1,1
Coefficiente de Variação (%)	6,5

**Reprodutibilidade:** A realização de 20 determinações de uma amostra, realizada por um operador diferente, utilizando o mesmo equipamento de medição, com valores dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados:

Reprodutibilidade	Amostra
Média	20
Desvio Padrão	0,5
Coefficiente de Variação (%)	2,5

**Sensibilidade analítica:** O método apresenta uma variação de absorvância em 340 nm igual a 0,0006 em cada acréscimo de 1U/L na concentração de AST. O limite de detecção do método é igual a 0,47 U/L.

## AUTOMAÇÃO

Aplicações para analisadores automáticos estão disponíveis, se solicitadas.

## CONTROLE DE QUALIDADE

O laboratório deve ter como prática de rotina o uso de soros controle comerciais. Preferivelmente deve participar de programas de controle externo de qualidade, a exemplo daqueles oferecidos pela SBAC e SBPC.

## INTERFERENTES

Hemólise conduz a resultados falsamente elevados.

Em amostras muito ictericas a absorvância da amostra mascara uma redução da absorvância da reação, com resultados baixos ou mesmo negativos, sendo necessário fazer uma diluição prévia da mesma.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bergmeyer, H.U (Ed.) Methods of Enzymatic Analysis, Academic Press, p.1985.
2. Karmen, A. J. Clin Invest. 34 : 131, 1955
3. IFCC report Clin. Chim. Acta 105:147(F),1980
4. Katal: Dados de arquivo.

## APRESENTAÇÃO

125 mL	Volume
1. Tampão	2 x 50 mL
2. Reagente Enzimático	2 x 12,5 mL

## CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

O desempenho deste sistema diagnóstico, medido pelas propriedades descritas nesta Instrução de Uso, está garantido até a sua data de vencimento, desde que obedecidas as seguintes condições:

- 1.A adesão estrita, pelo usuário, ao quadro de procedimento técnico.
- 2.As condições de armazenamento estarem de acordo com o recomendado nesta Instrução de Uso.
- 3.Os materiais necessários e não fornecidos com o produto, estarem em boas condições de uso.

## ASSESSORIA TÉCNICA

Para esclarecimentos de dúvidas e Assessoria Técnica ligue:

**(31) 3309-9262**

**e-mail: [biofocovet@focovet.com.br](mailto:biofocovet@focovet.com.br)**



CNPJ: 71.437.917/0001-04

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA PRODUTOS DIAGNÓSTICOS IN VITRO	
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa)
<b>CAL</b>	Material Calibrador
	Limite de temperatura (conservar a)
	Consultar instruções de uso
<b>REF</b>	Código do Produto
<b>IVD</b>	Produto para Diagnóstico In Vitro
<b>LYOPH</b>	Liofilizado
	Corrosivo
	Risco Biológico
	Tóxico
<b>R</b>	Reagente
	Fabricado por
<b>LOT</b>	Número de Lote