

## Utilização prevista

Para a determinação quantitativa de aspartato aminotransferase (AST) no soro humano utilizando os analisadores Yumizen C230 e Yumizen C240. **Rx Only.**

## Relevância clínica

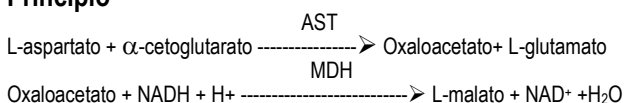
O AST está amplamente distribuído pelos tecidos, com as maiores concentrações no fígado, coração, músculos esqueléticos e rins. As doenças que envolvem qualquer um destes tecidos podem provocar níveis elevados de AST no soro. Após um enfarte do miocárdio, os níveis de AST estão elevados e atingem o pico passadas 48 a 60 horas.

Doenças hepatobiliares como cirrose, carcinoma metastático e hepatite viral podem apresentar um aumento dos níveis de AST. Outras afeições que podem provocar um nível elevado de AST são a distrofia muscular, dermatomiosite, pancreatite aguda e mononucleose infecciosa.<sup>1</sup>

## História dos métodos

Karmen<sup>2</sup> desenvolveu um procedimento de ensaio cinético em 1955 baseado na utilização de malato desidrogenase e NADH. Foram apresentados procedimentos otimizados por Henry<sup>3</sup> em 1960 e Amador e Wacker<sup>4</sup> em 1962. Estas modificações aumentaram a precisão e reduziram o efeito de substâncias interferentes. A Comissão de Enzimas da Sociedade Escandinava de Química Clínica e Fisiologia Clínica<sup>5</sup> publicou um método recomendado baseado nas modificações otimizadas em 1974. Em 1976, o Painel de Especialistas em Enzimas da Federação Internacional de Química Clínica (IFCC, International Federation of Clinical Chemistry)<sup>6</sup> propôs a adição de piridoxal-5-fosfato à mistura de reação para garantir a máxima atividade. A IFCC<sup>7</sup> publicou um método recomendado que incluía P-5-P em 1978. O presente método baseia-se nas recomendações da IFCC, mas não contém P-5-P, porque a maioria das amostras contém volumes adequados deste cofator para a recuperação completa da atividade de AST.<sup>8,9,10</sup>

## Princípio



O aspartato aminotransferase (AST) catalisa a transferência do grupo amino do L-aspartato para  $\alpha$ -cetogluturato para produzir oxaloacetato e L-glutamato. O oxaloacetato sofre uma redução com oxidação simultânea de NADH para NAD na reação do indicador catalisado de malato desidrogenase (MDH). A taxa de redução da absorção resultante a 340 nm é diretamente proporcional à atividade de AST. É adicionada desidrogenase láctica (LDH) para evitar a interferência do piruvato endógeno que normalmente está presente no soro.

## Reagentes

Depois de combinar R1 e R2, o reagente contém: Ácido L-aspártico 200 mM, ácido  $\alpha$ -cetoglutárico 11 mM, LDH (microbiano) > 1000 U/L, MDH (microbiano)  $\geq$ 800 U/L, NADH >0,18 mM, tampão, azida de sódio a 0,28%, estabilizadores.

## Preparação dos reagentes

Os reagentes estão prontos a utilizar.

## Armazenamento dos reagentes

Armazene os reagentes a 2-8°C. O reagente mantém-se estável até à data de validade apresentada no rótulo, quando armazenado conforme as instruções.

## Deterioração dos reagentes

Não utilize o reagente se:

1. A absorvância inicial a 340 nm for inferior a 0,800.
2. O reagente não cumprir os parâmetros de desempenho indicados.

## Precauções

1. Este conjunto de reagentes destina-se apenas a diagnóstico *in vitro*.
2. O reagente contém azida de sódio (0,28%) como conservante. Não ingira. Pode reagir com canalização de chumbo e cobre, formando azidas de metal altamente explosivas. Aquando da eliminação, escoe com água abundante para evitar a acumulação de azida.

## Colheita e armazenamento de amostras<sup>11</sup>

1. Recomenda-se a utilização de soro não hemolisado. Os glóbulos vermelhos contêm AST, o que pode dar origem a resultados erradamente elevados.
2. O AST no soro mantém-se estável durante dez dias quando refrigerado (2-8°C), durante duas semanas quando congelado (-20°C) e durante quatro dias quando armazenado à temperatura ambiente (15-30°C).

## Interferências

1. Diversos medicamentos e substâncias afetam a atividade da AST. Consulte Young, et al.<sup>12</sup>
2. Os pacientes com uma carência grave de vitamina B6 podem ter uma recuperação diminuída de AST, presumivelmente devido à falta de fosfato piridoxal.<sup>13</sup>
3. Verificou-se que a bilirrubina até pelo menos 18 mg/dL e a hemoglobina até pelo menos 300 mg/dL têm um efeito negligenciável neste procedimento.

## Materiais fornecidos

Reagentes R1 e R2 de AST (SGOT)

## Materiais necessários, mas não fornecidos

1. Analisador Yumizen C230/Yumizen C240
2. Manual de utilização do Yumizen C230/Yumizen C240
3. Controlo de química, número de catálogo C7592-100

## Parâmetros de teste

Teste:	AST	Química:	Aspartate Aminotransferase
N.º de química:	203	Nome em letra de imprensa:	AST
Tipo de reação:	Cinética	Direção de reação:	Negativo
Onda pri.:	340 nm	Onda sec:	405 nm
Decimal.:	0	Tipo de amostra:	Soro
Tempo de branco:		Tempo de reação:	3 11
Unidade:	U/L	Tempo de incubação:	3

	Vol. de amostra	Aspirado	Diluyente	Vol. de reagente	Diluyente	
Padrão;	6	uL	uL	R1: 120	uL	uL
Diminuído;		uL	uL	R2: 30	uL	uL
Aumentado;		uL	uL	uL		

Intervalo de linearidade (padrão):	0-500	Limite de linearidade:	0.3
Intervalo de linearidade (diminuído):		Redução de substrato:	5000
Intervalo de linearidade (aumentado):		Abs. de branco misturado:	-40000 40000
Abs. de branco R1:	-40000 40000	Estabilidade no equipamento:	30 Dia(s)
Resposta de branco -40000 40000		Limite de alarme do reagente:	5
Química dupla:			

Verificação prozona:			
Q1:		Q2:	Q3:
Q4:		PC:	ABS:

Utilizar resultado qualitativo:		
Intervalo:		Referência:

Desvio de declive:			
Declive		Desvio	Unidade
1		0	U/L

Pré-tratamento:			
Vol. de amostra pré-tratada:	uL	Vol. de reagente pré-tratado:	uL

Intervalo de ref.:				
Tipo de amostra:	Sexo:	Intervalo de idades:	Intervalo de ref.:	Intervalo crítico:
				Unidade:

# Conjunto de Reagentes de AST Pointe

## Parâmetros de configuração da calibração

Quím:	AST			
Definição da calibração	Calibrador	Conc.	Pos	N.º do lote
Modelo matemático: Fator K	Água	0,0	W	
Fator: 4200,00 Réplicas: 2				
Limites de aceitação				
Tempo cal: 24 h				
Dif declive: DP:				
Sensibilidade: Repetibilidade:				* Definida pelo utilizador
Deter coef:				
Calib. auto.				
<input type="checkbox"/> Tempo cal				

## Limitações

- As amostras com valores superiores a 500 IU/L devem ser diluídas com solução salina a 1:1, novamente submetidas a ensaio e os resultados devem ser multiplicados por dois.
- Os pacientes com uma carência grave de vitamina B6 podem ter uma recuperação diminuída de AST, presumivelmente devido à falta de fosfato piridoxal.<sup>13</sup>

## Calibração

O procedimento é padronizado através da capacidade de absorção milimolar do NADH considerada como 6,22 a 340 nm nas condições de teste descritas.

## Cálculo (exemplo)

Uma Unidade internacional (IU/L) é definida como a quantidade de enzima que catalisa a transformação de um micromole de substrato por minuto em condições especificadas.

$$\text{AST (IU/L)} = \frac{\Delta\text{Abs./Min.} \times 1,10 \times 1000}{6,22 \times 0,10 \times 1,0} = \Delta\text{Abs./min.} \times 1768$$

Em que  $\Delta\text{Abs./Min.}$  = Alteração média na absorvância por minuto  
 1000 = Conversão de IU/mL em IU/L  
 1,10 = Volume de reação total (mL)  
 6,22 = Capacidade de absorção milimolar de NADH  
 0,10 = Volume de amostra (mL)  
 1,0 = Trajetória da luz em cm

Exemplo: Se a alteração média na absorvância por minuto = 0,12, então  $0,12 \times 1768 = 212$  IU/L

NOTA: Se os parâmetros de teste forem alterados, o fator tem de ser recalculado utilizando a fórmula acima indicada.

Unidades do SI: Para converter em unidades do SI (nkat/L), multiplique a IU/L por 16,67.

## Controlo da qualidade

A validade da reação deve ser monitorizada utilizando soros de controlo com valores de AST (SGOT) normais e anormais conhecidos. Estes controlos devem ser efetuados, pelo menos, em cada turno em que sejam realizados ensaios de AST (SGOT). Recomenda-se que cada laboratório estabeleça a sua própria frequência de determinação de controlo. Os requisitos de controlo de qualidade devem ser executados em conformidade com os requisitos de acreditação e regulamentação local, estatal e/ou federal.

## Valores esperados<sup>13</sup>

8 a 22 IU/L (30°C)  
 5 a 34 IU/L (37°C)

Uma vez que os valores esperados são afetados pela idade, sexo, dieta e localização geográfica, cada laboratório é vivamente incentivado a estabelecer o seu próprio intervalo de referência para este procedimento.

## Desempenho

- Linearidade: 0-500 IU/L.
- Comparação: Foi realizado um estudo entre o analisador da série Yumizen 200 e um analisador semelhante utilizando este método, tendo resultado num coeficiente de correlação de 0,996 e uma equação de regressão de  $y=1,069x + 0,6$ . (n=50).

- Precisão: Foram realizados estudos de precisão utilizando o analisador da série Yumizen 200 na sequência de uma modificação das diretrizes constantes do documento NCCLS EP5-T2.<sup>14</sup>

Na mesma determinação			Entre dias		
Média	D.P.	% C.V.	Média	D.P.	% C.V.
39,8	1,7	4,2	50,3	1,4	2,78
182,6	3,2	1,8	194,5	3,8	1,95

- Sensibilidade: A sensibilidade deste reagente foi investigada através da leitura das alterações na absorvância a 340 nm para uma amostra de solução salina e amostras com concentrações conhecidas. Foram realizadas dez réplicas. Os resultados desta investigação indicaram que, no analisador utilizado, o reagente de AST (SGOT) exibiu pouco ou nenhum desvio de reagente numa amostra zero. Nas condições de reação descritas, 1 IU/L de atividade de AST resulta numa  $\Delta\text{Abs./Min.}$  de 0,0004.

## Bibliografia

- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders co., p 674 (1982).
- Karmen, A., et al, J. Clin. Invest 34:126 (1955).
- Henry, R.J., et al, Am. J. Clin. Path. 34:381 (1960).
- Amador, E., Wacker, W., Clin. Chem. 8:343 (1962).
- The Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology, Scand. J. Clin. Lab. Invest 32:291 (1974).
- Expert Panel of Enzymes of the International Federation of Clinical Chemistry, Clin. Chem. Acta. 70:F19 (1976).
- Expert Panel of Enzymes of the International Federation of Clinical Chemistry, Clin. Chem. 24:720 (1978).
- Jung, K., Bohm, M., Enzyme 23:201 (1978).
- Hafkenschied, J.C.M., Dijit, C.C.M., Clin. Chem. 25:1:55 (1979).
- Order, M., Bowers, G.N., Jr., Clin. Chem. 23:551 (1977).
- Henry, R.J., Clinical Chemistry: Principles and Technics, 2<sup>nd</sup> Ed., Hagerstown (MD), Harper & Row, P882 (1974).
- Young, D.S., et al, Clin. Chem. 21:1D (1975).
- Kaplan, L.A., Pesce, A.J., Clinical Chemistry, St. Louis, C.V. Mosby, p.911-912 (1989).
- NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2<sup>nd</sup> Ed. (1992).

## Legenda dos símbolos

Utilizar até (AAAA-MM-DD)	Lote e código
Número de catálogo	Fabricante
Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	Limite de temperatura
Consulte as instruções de utilização	Rx Only: Utilização apenas mediante receita médica
Marcação CE	Representante autorizado na Comunidade

12-A7561-100	Fabricado por HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand 5449 Research Drive Canton, MI 48188		
--------------	---	--	--

Fabricado por HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand 5449 Research Drive, Canton, MI 48188		
Representante Europeu Autorizado: Obelis s.a. Boulevard Général Wahis 53 1030 Brussels, BÉLGICA Tel.: (32)2.732.59.54 Fax: (32)2.732.60.03 e-mail: mail@obelis.net		

## Certificada para executar reagentes

Os reagentes Pointe são certificados para serem fabricados de acordo com parâmetros especificados. Qualquer produto de reagente Pointe que não cumpra as especificações até à data de validade indicada será regularizado imediatamente sem quaisquer custos.