

AST - GOT Cepa - Cinético UV

Método

Cinético UV-U/L - 37°C (IFCC)

Finalidade

Kit para determinação da Aspartato amino transferase (AST) em amostras de soro.

Princípio do método

A Aspartato amino transferase catalisa a transferência do grupo amina do aspartato para o 2-oxoglutarato com formação de glutamato e oxalacetato. Este é reduzido a malato pela ação da desidrogenase málica (MDH), enquanto a coenzima NADH é oxidada a NAD⁺. A concentração catalítica é determinada a partir da velocidade de extinção do NADH, medida espectrofotometricamente em 340 nm.

Reagentes fornecidos

1. Tampão: Tris 121 mmol/L, L-aspartato 362 mmol/L, desidrogenase málica >460 U/L, desidrogenase láctica >660 U/L, pH 7,80. (1x80 mL).
2. Coenzima: NADH 1,3 mmol/L, 2-oxoglutarato 75 mmol/L. Não pipetar com a boca. NOCIVO. (1x 20,0 mL).

Condições de uso e armazenagem

A data de validade aparece 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 a 8°C. Manter ao abrigo da luz. Os reagentes devem permanecer fora do refrigerador somente o tempo necessário para as dosagens.

Insumos e equipamentos necessários não fornecidos

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

Precauções e cuidados especiais

- Somente para uso diagnóstico "in vitro".
- Não misturar ou trocar lotes de reagentes diferentes.
- Evitar contaminação microbiana dos reagentes e não utilizar reagentes que tenham sinais de contaminação ou precipitação.
- Caso haja contato com quaisquer reagentes lavar a área afetada com água em profusão. Em caso de ingestão de reagentes procurar auxílio médico imediato munidos desta instrução de uso.
- Utilizar equipamentos de proteção individual segundo normas de biossegurança.
- A água (destilada ou deionizada) utilizada na limpeza do material ou nos procedimentos deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- Certificar-se das condições adequadas de funcionamento dos equipamentos de análise.
- O descarte do material utilizado deve ser feito segundo os critérios de biossegurança.
- Lavar as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.

Amostra biológica

- Soro.
- A Aspartato amino transferase em soro é estável durante 7 dias quando mantido

entre 2 a 8°C. O uso de anticoagulantes interfere na dosagem. Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante. Usar luvas descartáveis durante a manipulação do material biológico. As amostras devem ser descartadas, após o uso, em recipientes específicos para este fim. Não dispensar em coletores de lixo comuns ou nas redes de água e esgoto.

Procedimento

Ler, cuidadosamente, as instruções desta bula

Preparo dos reagentes:

Verter o conteúdo do frasco do Reagente nº 2 (Coenzima) no frasco de Reagente nº 1 (Tampão) e homogeneizar bem. É recomendável a transferência de parte do homogeneizado para o frasco de Reagente nº 2 (Coenzima), com o objetivo de se obter a diluição completa do reagente contido no mesmo; após homogeneizar, verter novamente o conteúdo no frasco de Reagente nº 1. Rotular como Reagente de Trabalho. Este reagente é estável, sob refrigeração, na faixa de 2 a 8°C, durante 2 meses, se mantido fora do refrigerador somente o tempo necessário para as dosagens.

Obs.: podem ser preparados volumes menores de reagente de trabalho, desde que respeitada a proporção de 1mL de Coenzima + 4mL de Tampão.

Dosagem:

1. Permitir que reagentes e amostras atinjam a temperatura ambiente;
 2. Pré-aquecer o espectrofotômetro e o reagente de trabalho a 37°C;
- Obs.: As determinações podem ser efetuadas também a 30°C. O fator de correlação utilizado é: 37/30°C=1,54
3. Acertar o zero do espectrofotômetro utilizando água destilada ou deionizada.
 4. Pipetar em uma cubeta termostatizada a 37°C como a seguir:

Método	Macro	Micro
Amostra	50 µL	25 µL
Reagente de Trabalho	1,0 mL	0,5 mL

5. Homogeneizar rapidamente e inserir em um porta cubetas termostatizado a 37°C.
6. Após 1 minuto, ler e registrar a absorbância inicial (A0), em 340 nm;
7. Realizar novas leituras (A1, A2 e A3), em intervalos de 1 minuto durante 3 minutos;
8. Comprovar que as diferenças entre as absorbâncias sejam sensivelmente iguais.
9. Calcular a média das diferenças das absorbâncias (ΔA/min), que será usada nos procedimentos de cálculo.

$$\Delta A/\text{min} = \frac{(A1-A0) + (A2-A1) + (A3-A2)}{3}$$

Cálculos

Considerando que o coeficiente de absorção molar do NADH é 6300 em 340 nm, se deduzem as seguintes fórmulas para calcular a concentração catalítica.

$$\Delta A/\text{min}(37^\circ\text{C}) \times \frac{3333}{55,55} = \text{U/L}$$

$$55,55 = \mu\text{Kat/L}$$

Unidades SI: - 0,013×(-55,55) = 0,72 µKat/L

Obs.: estes valores se aplicam à temperatura de trabalho em 37°C. Quando utilizar a temperatura de 30°C, multiplicar o resultado pelo fator de correlação 1,54.

Linearidade

A reação é linear até 500 U/L (8,33 µKat/L) em 340 nm. Para valores acima de 500

U/L, diluir a amostra com solução de NaCl 0,85% e repetir a dosagem. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

Valores de referência

- (37°C) até 40 U/L=0,67 µKat*

*Estes valores são dados apenas a título orientativo. É recomendável que cada laboratório estabeleça sua própria faixa de valores de referência.

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.

Dados estatísticos de desempenho do teste

Recuperação : 102,2%.

Coeficiente de variação intra-ensaio (repetitividade): A realização de 20 determinações de uma mesma amostra com valor dentro da faixa de referência, mostrou um coeficiente de variação igual a 1,40%. O mesmo procedimento para valores elevados mostrou um coeficiente de variação igual a 1,5%

Coeficiente de variação inter-ensaio (reprodutibilidade) : A realização de 20 determinações de uma mesma amostra com valor elevado, analisada em dias diferentes, mostrou um coeficiente de variação igual a 3,80%.

Especificidade analítica: A comparação com método similar validado (que também utiliza a metodologia enzimática no ultravioleta) demonstrou um coeficiente de correlação, r, igual a 0,986 a partir da análise de amostras aleatórias oriundas de pacientes de ambulatório. A equação de regressão obtida foi : y = 1,019x + 1,33

Sensibilidade analítica: O método apresenta uma variação de absorbância em 340 nm igual a em cada acréscimo de 1U/L na concentração de AST. O limite de detecção do método é igual a 6 U/L.

Interferentes

A bilirrubina (20 mg/dL) não interfere. A lipemia (triglicérides acima de 200 mg/dL) e a hemólise pode afetar os resultados. Outros medicamentos e substâncias podem interferir.

Referências bibliográficas

- 1 IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes.
2. J CLIN, chem Clin Biochem 1986; 24:481-495

Apresentação

Número de testes Macro: 100

Número de testes Micro: 200

Automação

Os reagentes podem ser utilizados em analisadores automáticos. Vide programação no verso ou solicite informações ao seu distribuidor.

Dados do fabricante

MBiolog Diagnósticos Ltda
Rua Gama, 337 – Vila Paris – Contagem – MG – CEP 32372-120
Resp. Técnico: Fabrício Galvão de Brito – CRF-MG 9587

SAC - Serviço de Atendimento ao Cliente

☎(31) 3394-9005 (Ramal: 211)

✉ sac@mbiolog.com.br

REV.: 05/05

COBAS MIRA/ PLUS®

GENERAL

MEASUREMENT MODE

REACTION MODE

CALIBRATION MODE

REAGENT BLANK

CLEANER

WAVELENGTH

DECIMAL POSITION

UNIT

ANALYSIS

POST. DIL FACTOR

CONC. FACTOR

SAMPLE CYCLE

VOLUME

DILUTION NAME

VOLUME

REAAGENT CYCLE

VOLUME

CALCULATION

SAMPLE LIMIT

REACTION DIRECTION

CHECK

CONVERSION FACTOR

OFFSET / TEST RANGE LOW

HIGH

NORMAL RANGE LOW

HIGH

NUMBER OF STEPS

CALCULATION STEP A

READING FIRST

LAST

REACTION LIMIT

CALIBRATION

CALIBRATION INTERVAL

TIME

REAGENTE RANGE LOW

HIGH

BLANK RANGE LOW

HIGH

FACTOR

ABSORB

R-S - 1

FACTOR - 1

REAG/DIL - 2

NO - 1

340 nm - 1

0 (U/L)

21 (U/L)

NO - SPACE

1

10 µL

H2O - 0

20 µL

1

200 µL

NO - SPACE

DECREASE - 2

ON - 1

1

0 / 0

500 U/L

0

42

1

KINSEARCH - 3

2

10

NO - SPACE

ON REOUEST - 3

NO - SPACE

NO - SPACE

-0,20 ÅÅ

0,20 ÅÅ

5776

Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.

EXPRESS 550/PLUS®

TEST NAME: AST

TEST: AST

TEST BAR CODE: IPU*

TEST TYPE: KINETIC

UNITS: U/L

PRIMARY WAVELENGHT: 340

READ TIME / INTERVAL: 60

FACTOR: 3333

CALIBRATION INTERVAL: 180 h

Nº OF CALIBRATOR: IPU*

LOW BLANK A LIMIT: 0

LOW A LIMIT: 0

LOW NORMAL: 0

LINEARITY LIMIT: 500

SAMPLE VOLUME: 15 µL

SAMPLE DILUENTE BOTTLE TYPE: *

REAAGENT DILUENTE BOTTLE TYPE:*

REAAGENT DILUENT: VOL. RAG. BD DIL LAG TIME BT

REAAGENT 1: 300 60 *

IPU: Inserido Pelo Usuário

*: Entre com o tipo de frasco utilizado. Plástico ou Vidro

Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.

CURVE TYPE:: ENZ. LINEAR

Nº OF DECIMAL PLACE: 0

SECONDARY WAVELENGHT: 380

SAMPLE BLANK: 380

Nº OF REPLICATES: 2

HIGH BLANK A LIMIT: 2000

HIGH A LIMIT: 2500

HIGH NORMAL: 41

CURVE S.D. LIMIT: 8

TEST: ALT

PREDILUTION RATIO: 1

Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.

BIO2000® & LABQUEST®

MODO

CIN

INT. CIN

60

WLI

340

Nº DE INTERV

3

WL2

ÅÅ LIMIT

0,2

TEMP?

37°C

% LIM LIN

20

VOL ASP

400

DIR

DECR

RETARDO

60

ABS REAT MIN

0,8

FATOR

3383

ABS REAT MIN

1,8

UNDIDAD

U/L

VR/VN MIN

0

DECIMALS

0

VR/VN MAX

42

IMPRESSÃO

EXT

Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.

RA-50®

TEMPERATURA

VOLUME DA AMOSTRA

VOLUME DO REAGENTE

FATOR

VALOR NORMAL

TIPO DE REAÇÃO

UNIDADES

COMPRIMENTO DE ONDA

INTERVALO DE TEMPO

ESTABILIZAÇÃO

NÚMERO DE LEITURAS

INCLINAÇÃO DA REAÇÃO

LINEARIDADE

ABS. MIN. INICIAL

LINEARIDADE

DESVIO

PRECISÃO DO RESULTADO

VOLUME DE ASPIRAÇÃO

37 °C

50 µL

1000 µL

3333

0 - 41

CINÉTICA ENZIMÁTICA

U/L

340 nm

60

60

3

DECRESCENTE

330

0,8

500

10,00%

1.0 U/L

400 µL

Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.

RA-100®

TEST Nº / TEST NAME

UNITS

LOW NORMAL

HIGH NORMAL

FACTOR

STAND. CON

TYPE

WAVELENGTH

SAMPLE VOLUME

SAMPLE PRIME VOL.

SAMPLE FLUSH VOL.

REAGENT. VOL

REAG. PRIME VOL.

REAG. FLUSH VOL.

INCUBATION TIME

READ TIME

REAG. ABS LOW

REAG. ABS HIGH

REACT. ABS LOW

REACT. ABS HIGH

MAX LIN RSLT

TEMPERATURA

AST

U/L

0

41

-3344

-

2

340

15

2,5

250

300

12,5

300

70

140

0,9

1,7

0,5

2

500

37 °C

Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.

BTS-310®

LOCALIDAD

NOMBRE TECNICA

UNIDADES

MODO DE CÁLCULO

MODO DE LECTURA

FILTRO REFERENCIA

FILTRO LECTURA

FATOR

TIEMPO ESTBILIDAD

TIEMPO INCUBACION

TIEMPO INTERVALO

NÚMERO DE INTERVALOS

VOLUME DE ASPIRAÇÃO

TIPO DE REACION

ESTANDAR / N° ESTANDARTES

DUP. ESTANDARTES

DUP. MUESTRAS

ESCALAS ABS / CON.

FACTOR DILUCION

TEMPERATURA

IPU*

AST

2

CIN

MONO

-

340

3333

1

60

60

3

400

DECRESCENTE

-

-

-

-

-

37

Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.

ABBOT VP®

NAME INDEX – TES NAME

TEMPERATURE

FILTER ID CODE

UNITS

DILUTION 1:

REV. TIME

AUX. DISP

FRR

REACTION UP

STANDARDS

REAG. BLANK

ASSAY FACTOR

END. POINT

BGN PRT REVOVUTION

PRT REVOLUTION

INITIAL ABS

UP LIMIT

SUBSTRAT DEPLECTION

REAGENT DEGRADATION

AST

37°C

43 (340/380)

07 (U/L)

26 (1:26)

2

NO

YES

NO

NO

YES

1300

NO

3

1

0,9

NO

NO

30

Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.

Todos os equipamentos são marcas registradas de seus fabricantes