

Kit para determinação do aspartato aminotransferase em amostra de soro

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

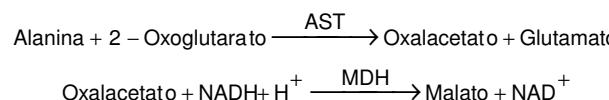
Significado Clínico

As enzimas Alanina Aminotransferase (ALT) e a Aspartato Aminotransferase (AST), catalisam a transferência de um grupo amino, de um aminoácido, a um hidrocarboneto para formar um aminoácido diferente.

A AST está presente em muitos órgãos além do fígado, incluindo o coração e o músculo, enquanto a ALT é encontrada somente no fígado. Oitenta por cento da AST das células do fígado (hepatócitos) estão nas mitocôndrias, enquanto que a ALT está localizada no citoplasma. Sendo assim, as atividades destas enzimas são utilizadas como indicadores de danos hepatocelulares e o coeficiente AST:ALT (quociente de Ritis) tem grande valor diagnóstico.

Princípio do teste

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 mática (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.



Composição dos reagentes

Tampão: Tris 150 mmol/L, L-aspartato 362 mmol/L, desidrogenase láctica >460 U/L, Desidrogenase láctica > 660 U/L. PH 7,80.

Coenzima: NADH 1,3 mmol/L, 2-oxoglutarato 75 mmol/Hidróxido de sódio 148 mmol/L, azida sódica 9,5g/L. **Não pipetar com a boca. NOCIVO.**

Os reagentes, quando armazenados nas condições recomendadas, são estáveis até a data de validade expressa no rótulo do produto.

Apresentações

Código	Tampão	Coenzima	Testes	
0018	1x80 mL	1x 20 mL	Macro 100	Micro 200

O número de testes em equipamentos automatizados dependerá do protocolo de automação utilizado.

Materiais necessários não fornecidos

- Água destilada ou deionizada;
- Banho maria;
- Cronômetro;
- Espectrofotômetro;
- Pipetas manuais ou automáticas;
- Ponteiras descartáveis;
- Vitraria.

Armazenamento, transporte e validade

Armazenar os reagentes entre 2-8°C em sua embalagem original. Os produtos poderão ser transportados, por até 48 horas, entre 2-30°C. A data de validade se encontra no rótulo do produto.

Precauções e cuidados especiais

- 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

O analito é estável por 7 dias entre 2 a 8 °C.

Nota

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 esgoto.

Interferentes pré-analíticos⁴

Triglicérides acima de 200 mg/dL pode interferir nos resultados.

Preparo do reagente

Verter o conteúdo do frasco R2 no frasco R1 e homogeneizar bem. É recomendável a transferência de parte do homogeneizado para o frasco R2, com o objetivo de se obter a diluição completa do reagente contido no mesmo. Após homogeneizar, verter novamente o conteúdo no frasco R1. 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.

Nota

Podem ser preparados volumes menores de reagente de trabalho, desde que respeitada a proporção de 1mL do R2 + 4mL do R1.

Procedimento

Permitir que reagentes e amostras atinjam a temperatura ambiente.

Passo 1 Pipetar, em diferentes tubos de ensaio, como a seguir:

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

Passo 2 Acertar o zero do espectrofotômetro utilizando água destilada ou deionizada;

Passo 3 Homogeneizar rapidamente e inserir em um porta cubetas termostatizado a 37°C;

Passo 4 Ler e registrar a absorbância inicial (A0), em 340 nm e acionar o cronômetro;

Passo 5 Realizar novas leituras (A1, A2 e A3), em intervalos de 1 minuto durante 3 minutos;

Passo 6 Comprovar que as diferenças entre as absorbâncias sejam sensivelmente iguais;

Passo 7 Calcular a média das diferenças das absorbâncias ($\Delta A/\text{min.}$), 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 a 37°C:

$$\Delta A/\text{min.} \times 3333 = \text{U/L} \quad \Delta A/\text{min.} \times 55,55 = \mu\text{kat/L}$$

Valores de referência

37°C (U/L)

Soro	Menor que 40
------	--------------

Nota

Estes valores são 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. Preferencialmente deve participar de programas de controle externo de qualidade, a exemplo daqueles oferecidos pela SBAC e SBPC.

Características de desempenho do produto

Sensibilidade analítica: A sensibilidade do método é de 1,1 U/L (0,018 $\mu\text{Kat/L}$).

Limite de Linearidade: Os resultados são lineares, no soro, até 500 U/L (8,33 $\mu\text{Kat/L}$).

Para valores maiores que 500 U/L, diluir a amostra 1:10 com água destilada/deionizada e repetir o ensaio. Multiplicar o resultado encontrado pelo fator de diluição cinco (10).

Estudos comparativos: Este produto não apresentou variação sistêmica significativa quando comparado com produtos de mesma metodologia.

Repetitividade e Reprodutibilidade:

Soro:

Repetitividade	Concentração média	n	CV%
	38 U/L	20	1,4
Reprodutibilidade	119 U/L	20	1,5
	Concentração média	n	CV%
Reprodutibilidade	38 U/L	25	5,9
	119 U/L	25	3,8

Termo de garantia

A MBiolog Diagnósticos Ltda garante o desempenho deste produto até a data de expiração indicada no rótulo, desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções de uso forem seguidas corretamente.

Meio ambiente

As caixas e bulas podem ser encaminhados para coleta seletiva e reciclados, desde que não contenha contaminações químicas e/ou biológicas. Preserve o meio ambiente.

Referências

1. Barham D, Trinder P. An improved colour reagent for the determination of blood glucose by oxidase system. Analyst 1972; 27:142-145.
2. Fossati P, Prencipe L, Berti G. Use of 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. Clin Chem 1980; 26:227-231.
3. Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests, 2nd ed. Saunders Co, 1991.
4. Lima A et al., 1992. Métodos de Laboratório aplicado a clínica. 7° Ed. Editora Guanabara.
5. Miller, O e Gonçalves, R., 1995. Laboratório para o Clínico. 8° Ed. Editora ATHENEU

SAC – SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE

(31) 3507 0707

sac@mbiolog.com.br

REV.: 03 – 03/05/2011

Fabricado por: MBiolog Diagnósticos Ltda

Rua Gama, 337 – Vila Paris – Contagem – MG

CEP: 32.372-120 - CNPJ: 03.590.360/0001 – 89

Resp. Técnico: Fabrício G de Brito CRF-MG 9587

Empresa Certificada: BPFC - ISO 9001

RMS: 80047580113