

**AST | AST**Kit para determinação da aspartato aminotransferase (AST) por metodologia cinética UV.  
Kit para determinación de aspartato aminotransferasa (AST) por metodología cinética UV.Ref: 421  
MS 8002230083**MÉTODO**

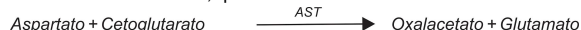
Cinético - UV

**FINALIDADE**

Reagentes para determinação quantitativa da atividade da aspartato aminotransferase (AST) ou transaminase glutâmico oxalacética (GOT ou TGO) no soro ou plasma. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

**FUNDAMENTO**

A AST catalisa a transferência do grupo amina do aspartato 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<sup>+</sup>. A atividade enzimática da AST na amostra é calculada com base na redução da absorvância em 340 nm, quando o NADH se transforma em NAD<sup>+</sup>.

**SIGNIFICADO CLÍNICO**

A aspartato aminotransferase (AST) é uma enzima encontrada em concentração muito alta no músculo cardíaco, no fígado, músculos esqueléticos e em menor concentração nos rins e pâncreas. Nas células hepáticas, a AST localiza-se no citoplasma (40%) e na mitocôndria (60%). Qualquer lesão tissular ou doença afetando o parênquima hepático liberará uma maior quantidade da enzima para a corrente sanguínea, elevando os níveis séricos da AST. Sempre que ocorrer uma lesão hepatocelular de qualquer etiologia haverá uma grande liberação da enzima AST para a corrente sanguínea, elevando seus níveis séricos. Na hepatite vírica aguda, os níveis de AST encontram-se quase sempre elevados em mais de 10 vezes o limite superior da faixa de referência e em alguns casos ultrapassam a 20 vezes esse limite superior de normalidade. Entretanto, dentro de uma a duas semanas, os valores de AST diminuem bastante podendo cair para a faixa normal ou apresentar ligeiro aumento. Nos casos de obstrução extra-hepática, as elevações de AST não são comuns, mas podem ocorrer quando há lesão parenquimatosa secundária aguda.

Na cirrose, as alterações da AST e seus respectivos níveis vão depender da ocorrência e do grau de lesão hepatocelular ativa presente. Geralmente, na cirrose inativa os valores de AST não se alteram. Na cirrose alcoólica ativa, os valores de AST se elevam moderadamente. Na hepatite vírica crônica ativa, os níveis de AST também encontram-se elevados moderadamente. Várias doenças comuns apresentam elevação pequena ou moderada de AST, e entre elas podemos citar: mononucleose infecciosa, hepatite aguda na fase de remissão ou recuperação, hepatite crônica, disfunção hepática induzida por drogas, tumor hepático metastático, congestão hepática passiva, cirrose ativa ou hepatopatia alcoólica, obstrução extra-hepática prolongada do ducto biliar, fígado gorduroso e citomegalovirus.

Na maioria das vezes, a dosagem de AST é realizada juntamente com a ALT e a relação AST/ALT pode ser determinada para auxiliar no diagnóstico diferencial das doenças. Assim, a relação AST/ALT é sempre maior do que 1 em pacientes com cirrose alcoólica, hepatites crônicas, congestão hepática e tumor com metástase do fígado. Geralmente, essa relação é menor do que 1 nos casos de hepatite vírica aguda e mononucleose infecciosa.

Nos casos de lesão do miocárdio, a AST juntamente com a dosagem da creatina quinase (CK) e da desidrogenase láctica (LDH) é muito útil para o diagnóstico e acompanhamento do infarto do miocárdio (IM).

**QUALIFICAÇÕES DO PRODUTO**

- Metodologia cinética contínua em ultravioleta facilmente adaptável em analisadores automáticos e semi-automáticos.
- O produto emprega reagentes líquidos, possibilitando o preparo do volume de Reagente de Trabalho de acordo com a demanda do laboratório.
- A metodologia permite obter resultados exatos e precisos se for executada conforme descrita nesta Instrução de Uso.

**IDENTIFICAÇÃO DOS REAGENTES**

Conservar entre 2-8 °C

1. **Tampão** - Contém Tampão Tris 105 mmol/L; L-aspartato 330 mmol/L; MDH 825 U/L; LDH 1200 U/L e azida sódica 0,095%, estabilizadores, surfactantes.
2. **Coenzima** - Contém Tampão Tris 20 mmol/L; NADH 1320 mol/L; 2-cetoglutarato 66 mmol/L e azida sódica 0,095%, estabilizadores, surfactantes.

**ESTABILIDADE**

Os reagentes são estáveis até o vencimento da data de validade impressa no rótulo do produto e na caixa quando conservados na temperatura recomendada, bem vedados e se evite a contaminação durante o uso.

**Sinais de Deterioração dos Reagentes**

1. Presença de partículas e turbidez indicam deterioração dos reagentes.
2. A absorvância do Reagente de Trabalho lida contra a água em 340 nm deverá ser superior a 1,0 durante toda a sua utilização ou até a expiração da data de validade do mesmo.

**MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS**

- Espectrofotômetro UV com cubeta termostatizada;
- Tubos e pipetas;
- Cronômetro.

**PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS**

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes e amostra biológica.
- Os reagentes contêm azida sódica como conservante. Evitar contato com os olhos, pele e mucosa. Não aspirar ou ingerir.
- Recomendamos o uso das Boas Práticas em Laboratório Clínico para a execução do teste.
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes.
- Os reagentes contêm azida sódica como conservante. Evitar contato com os olhos, pele e mucosa. Não aspirar ou ingerir.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.

**AMOSTRA**

SORO ou PLASMA (EDTA ou heparina).

O analito é estável por 7 dias entre 2-8 °C. Não utilizar amostras hemolisadas.

**Nota:** Recomendamos que a coleta, preparação, armazenamento e descarte das amostras biológicas sejam realizadas seguindo as recomendações das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Enfatizamos que os erros provenientes da amostra podem ser muito maiores do que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

**INFLUÊNCIAS PRÉ-ANALÍTICAS**

A atividade enzimática da AST está aumentada no alcoolismo crônico.

O uso de esteróides anabolizantes, clorotiazida, clorofenicol, uso prolongado de aspirina, gentamicina e algumas outras drogas podem elevar a atividade da AST.

**INTERFERÊNCIAS**

A bilirrubina até 19 mg/dL, lipemia (triglicérides até 650 mg/dL), hemólise (hemoglobina até 45 mg/dL) e o piruvato de sódio até 0,2 mmol/L não produzem interferências significativas.

Amostra hemolisada com hemoglobina acima de 45 mg/dL produz interferência positiva significativa.

Amostras fortemente lipêmicas e ictericas apresentam absorvância elevada em 340 nm. Quando a atividade enzimática nessas amostras estiver muito aumentada pode ocorrer consumo muito rápido do substrato sem ocorrer uma diminuição significativa da absorvância. Portanto, quando for obtido valores baixos de AST nessas amostras, repetir a dosagem diluindo o soro com solução de NaCl 150 mmol/L (0,85%).

**PROCEDIMENTO DO TESTE****A. Condições de Reação**

Leitura: Comprimento de onda 340 nm

Temperatura: 37°C

Tipo de Reação: Cinética contínua decrescente

**Preparo do Reagente de Trabalho**

De acordo com o consumo, misturar suavemente os reagentes 1 e 2 na seguinte proporção: 4 volumes de Tampão (1) mais 1 volume de Coenzima (2).

O Reagente de Trabalho é estável por 10 dias entre 2-8°C.

**B. Técnica de Análise sem Calibrador****1. Pipetar na cubeta ou tubo:**

Reagente de Trabalho	1000 µL
Amostra	100 µL

2. Homogeneizar, inserir a cubeta no porta-cubetas termostatizado a 37 °C e acionar o cronômetro.

3. Após 1 minuto, fazer a leitura da absorvância inicial (A<sub>0</sub>).

4. Fazer novas leituras de absorvância, após exatamente 1, 2 e 3 minutos.

5. As diferenças entre as absorvâncias devem ser praticamente iguais, indicando a linearidade do método.

6. Calcular o decréscimo de absorvância médio por minuto (ΔA/minuto médio).

**Atenção:** Uma absorvância inicial inferior a 0,800 indica que a amostra tem uma atividade enzimática de AST alta. Neste caso, diluir a amostra e repetir o ensaio.

**Cálculos**

Ver Linearidade.

Considerando que o coeficiente de absorção milimolar do NADH em 340 nm é 6,3, deduz-se a seguinte fórmula para calcular a concentração catalítica :

$$\text{U/L de AST(GOT) em 340 nm} = \Delta A/\text{minuto médio} \times 1746$$

Onde: ΔA/min médio = Variação média da absorvância por minuto.

O fator 1746 é calculado com base nas condições da reação cinética contínua. Esse fator deve ser recalculado sempre que se fizer qualquer modificação nos parâmetros da reação.

Ver método para cálculo do fator.

**Exemplo**

Se ΔA/minuto do teste = 0,0285

Atividade AST em U/L = ΔA teste X 1746

Atividade AST = 0,0285 X 1746 = 50 U/L

### Cálculo do Fator

$$\text{Fator} = (\text{Vt} \times 1000) \div (\epsilon \times \text{Va} \times \text{d})$$

Vt = volume total do ensaio = 1100 µL

Va = volume da amostra = 100 µL

1000 = conversão de U/mL para U/L

d = espessura da cubeta, via da luz = 1 cm

$\epsilon$  = Absortividade milimolar do NADH em 340nm = 6,3

$$\text{Fator} = (1100 \times 1000) \div (6,3 \times 100 \times 1) = 1746$$

### C. Técnica de Análise com Calibrador Cat. 410 da Gold Analisa.

#### 1. Pipetar na cubeta ou tubo:

Reagente de Trabalho	1000 µL
Amostra ou Calibrador	100 µL

2. Homogeneizar, inserir a cubeta no porta-cubetas termostático a 37 °C e acionar o cronômetro.

3. Após 1 minuto, fazer a leitura da absorbância inicial ( $A_0$ ).

4. Fazer novas leituras de absorbância, após exatamente 1, 2 e 3 minutos.

5. As diferenças entre as absorbâncias ( $\Delta A$ /minuto) devem ser praticamente iguais, indicando a linearidade do método.

6. Calcular o decréscimo médio de absorbância por minuto do Calibrador e do Teste ( $\Delta A$ /minuto médio).

#### Notas

1. Utilizar o Calibrador - Cat. 410 da Gold Analisa.

Ver Instruções de Uso e valor tabelado para AST.

2. O desempenho do Calibrador pode ser afetado por vários fatores como: erros de reconstituição, de homogeneização, armazenamento incorreto, contaminação da água ou vidraria.

3. Uma absorbância inicial inferior a 0,800 indica que a amostra tem uma atividade enzimática de AST alta. Neste caso, diluir a amostra e repetir o ensaio.

#### Cálculos

Ver Linearidade.

Como a metodologia obedece a lei de Lambert-Beer, pode-se efetuar os cálculos através do Fator de Calibração (FC).

$\Delta A$ /minuto médio = Variação média da absorbância por minuto.

AC = Atividade de AST do Calibrador = x U/L (Ver valor de AST na tabela do Calibrador)

AT = Atividade de AST do Teste em U/L =  $\Delta A$ /minuto do Teste x FC

FC = Fator de Calibração = AC  $\div$   $\Delta A$ /minuto médio do Calibrador

#### Exemplo

Se  $\Delta A$ /minuto médio do Calibrador = 0,064

Se  $\Delta A$ /minuto médio do Teste = 0,022

Se AC = 112 U/L (Valor indicado na tabela do Calibrador)

FC = AC  $\div$   $\Delta A$ /minuto médio do Calibrador = 112  $\div$  0,064 = 1750

AT = Atividade de AST do Teste em U/L = 0,022 x FC = 0,022 x 1750 = 38 U/L

#### Atenção

As técnicas apresentadas são adequadas para fotômetros cujo volume mínimo de solução para leitura é igual ou menor que 1000 µL.

O analista sempre deve fazer uma verificação da necessidade de ajuste do volume para o fotômetro empregado no seu laboratório.

Os volumes de amostra e de reagente podem ser modificados proporcionalmente, sem alterar o desempenho do teste e os cálculos.

Em caso de redução dos volumes é necessário observar o volume mínimo de leitura fotométrica.

Volumes da amostra menores do que 10 µL são críticos em aplicações manuais e devem ser usados com cautela porque aumentam a imprecisão da medição.

#### Conversão de Unidades

Unidade convencional (U/L) x 16,7 = Unidade SI (nKat/L)

#### VALORES DE REFERÊNCIA (37 °C)

Homens: 11 - 39 U/L

Mulheres: 10 - 37 U/L

Estes valores devem ser usados como uma orientação. É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

#### AUTOMAÇÃO

Este kit pode ser utilizado na maioria dos analisadores automáticos.

O consumidor poderá solicitar mais informações através do Setor de Apoio ao Cliente (SAC) ou acessando o site [www.goldanalisa.com.br](http://www.goldanalisa.com.br)

#### CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório clínico deve manter um Programa de Garantia da Qualidade para assegurar que todos os procedimentos laboratoriais sejam realizados de acordo com as Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Para controle e verificação do desempenho do kit usar Soro Controle N e Soro Controle P da Gold Analisa.

É importante que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores médios e os respectivos limites de variação.

#### CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO<sup>9</sup>

##### Linearidade

A reação é linear até 400 U/L. Para valores maiores, diluir a amostra com solução de NaCl 150 mmol/L (0,85%) e realizar uma nova determinação. Multiplicar o valor obtido pelo fator de diluição empregado.

#### Repetitividade

A imprecisão intra-ensaio foi calculada com 20 determinações sucessivas de AST utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes.

As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 2,0 e 0,8%.

#### Reprodutibilidade

A imprecisão inter-ensaio foi calculada com 20 determinações de AST em dias diferentes utilizando 2 amostras de soro com concentrações diferentes.

As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 4,0 e 2,8%.

#### OBSERVAÇÕES

1. A observação minuciosa da limpeza e secagem da vidraria, da estabilidade dos reagentes, da pipetagem, da temperatura e do tempo de reação é de extrema importância para se obter resultados precisos e exatos.

2. Na limpeza da vidraria pode-se empregar um detergente neutro ou uma solução ácida. A última lavagem deve ser feita com água destilada ou deionizada.

3. A água utilizada nos laboratórios clínicos deve ser purificada utilizando-se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, aminas e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bergmeyer HU, Scheibe P, Wahlefeld AW. Clin Chem 1978;24:58.

2. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Fundamento de Química Clínica, 4a Ed - Guanabara Koogan SA; 1998.

3. Gella FJ et al. Clin Chim Acta 1985; 153-241-247.

4. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. J Clin Chem Clin Biochem 1986; 24:497-510.

5. Karmen A. J Clin Invest 1955;34:131.

6. Lopes HJJ. Enzimas no Laboratório Clínico-Aplicações Diagnósticas. Belo Horizonte, Analisa Diagnóstica, 1998.

7. Sociedad Española de Química Clínica, Comité Científico, Comisión de Enzimas. Quim Clin 1987; 6:235-239.

8. Westgard JO, Groth T. Clin. Chem. 1981;27:493-501.

9. GOLD ANALISA: Dossiê Técnico do Produto.

#### TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

##### Lei nº 8.078 de 11-9-90 - Código de Defesa do Consumidor

A Gold Analisa garante a substituição, sem ônus para o consumidor, de todos os produtos que comprovadamente apresentarem problemas técnicos, desde que o usuário utilize equipamentos e materiais em boas condições técnicas, siga rigorosamente o procedimento técnico e as recomendações estabelecidas nas Instruções de Uso.

Nº do lote e data de validade: Vide Rótulos do Produto

Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16

AF MS Nº 800222-3 - Reg. MS - Nº 80022230083

Farm. Resp. Isabela Fernandes dos Santos - CRF -MG:16773

Av. Nossa Senhora de Fátima, 2363 - Carlos Prates - Fone: (31) 3272-1888









Belo Horizonte MG Brasil CEP: 30710-020

Home page: [www.goldanalisa.com.br](http://www.goldanalisa.com.br)

E-mail: [goldanalisa@goldanalisa.com.br](mailto:goldanalisa@goldanalisa.com.br)

Setor de Apoio ao Cliente (SAC): 0800 703 1888

#### Analisa é marca registrada da Gold Analisa Diagnóstica Ltda

SIMBOLOGIA			
	Número do catálogo		Limite de temperatura
	Número do lote		Quantidade de testes
	Produto para diagnóstico <i>in vitro</i>		Consultar as instruções de uso
	Data limite de utilização		Fabricado por

Revisão: 04/22



AST|AST

Kit para determinação da aspartato aminotransferase (AST) por metodologia cinética UV.  
Kit para determinación de aspartato aminotransferasa (AST) por metodología cinética UV.

Ref: 421  
MS 80022230083

## MÉTODO

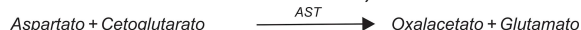
Cinético - UV

## META

Reactivos para la determinación cuantitativa de la actividad de la aspartato aminotransferasa (AST) o la transaminasa glutámico oxalacética (GOT o TGO) en suero o plasma. Sólo para uso diagnóstico in vitro.

## RAZÓN FUNDAMENTAL

AST cataliza la transferencia del grupo amino del aspartato al cetoglutarato con formación de glutamato y oxaloacetato. El oxaloacetato se reduce a malato por acción de la malato deshidrogenasa (MDH), mientras que la coenzima NADH se oxida a NAD<sup>+</sup>. La actividad enzimática de AST en la muestra se calcula en función de la **disminución de la absorbancia a 340 nm, cuando el NADH cambia a NAD<sup>+</sup>**.



## SIGNIFICACIÓN CLÍNICA

La aspartato aminotransferasa (AST) es una enzima que se encuentra en concentraciones muy altas en el músculo cardíaco, el hígado, los músculos esqueléticos y en concentraciones más bajas en los riñones y el páncreas. En las células hepáticas, la AST se encuentra en el citoplasma (40 %) y las mitocondrias (60 %). Cualquier lesión tisular o enfermedad que afecte al parénquima hepático liberará una mayor cantidad de la enzima al torrente sanguíneo, elevando los niveles séricos de AST. Cada vez que ocurre una lesión hepatocelular de cualquier etiología, habrá una gran liberación de la enzima AST en el torrente sanguíneo, elevando sus niveles séricos. En la hepatitis viral aguda, los niveles de AST casi siempre se elevan a más de 10 veces el límite superior del rango de referencia, y en algunos casos superan 20 veces este límite superior de normalidad. Sin embargo, dentro de una a dos semanas, los valores de AST disminuyen significativamente y pueden caer en el rango normal o presentar un ligero aumento. En casos de obstrucción extrahepática, las elevaciones de AST no son comunes, pero pueden ocurrir cuando hay una lesión parenquimatosa secundaria aguda.

En la cirrosis, los cambios en la AST y sus respectivos niveles dependerán de la ocurrencia y el grado de lesión hepatocelular activa presente. Generalmente, en la cirrosis inactiva, los valores de AST no cambian. En la cirrosis alcohólica activa, los valores de AST están moderadamente elevados, en la hepatitis viral activa crónica, los niveles de AST también están moderadamente elevados. Varias enfermedades comunes presentan una elevación pequeña o moderada de AST, y entre ellas podemos mencionar: mononucleosis infecciosa, hepatitis aguda en fase de remisión o recuperación, hepatitis crónica, disfunción hepática inducida por fármacos, tumor hepático metastásico, congestión hepática pasiva, cirrosis activa o enfermedad hepática, alcohol, obstrucción prolongada de vías biliares extrahepáticas, hígado graso y citomegalovirus.

La mayoría de las veces, la medición de AST se realiza junto con ALT y se puede determinar la relación AST/ALT para ayudar en el diagnóstico diferencial de enfermedades. Así, la relación AST/ALT siempre es mayor a 1 en pacientes con cirrosis alcohólica, hepatitis crónica, congestión hepática y tumor con metástasis hepáticas. Esta relación suele ser inferior a 1 en casos de hepatitis viral aguda y mononucleosis infecciosa.

En casos de lesión miocárdica, la AST junto con la medición de la creatina quinasa (CK) y la deshidrogenasa láctica (LDH) es de gran utilidad para el diagnóstico y seguimiento del infarto de miocardio (IM).

## CALIFICACIONES DEL PRODUCTO

Metodología cinética ultravioleta continua fácilmente adaptable a analizadores automáticos y semiautomáticos.

El producto utiliza reactivos líquidos, lo que permite preparar el volumen de Reactivo de Trabajo de acuerdo con la demanda del laboratorio.

La metodología permite obtener resultados exactos y precisos si se realiza como se describe en estas Instrucciones de uso.

## IDENTIFICACIÓN DE REACTIVOS

### Almacenar a 2-8°C

Tampón: contiene 105 mmol/L de tampón Tris; L-aspartato 330 mmol/L; MDH 825 U/L; LDH 1200 U/L y azida sódica 0,095%, estabilizantes, tensioactivos.

Coenzima: contiene 20 mmol/L de tampón Tris; NADH 1320 mol/L; 2-cetoglutarato 66 mmol/L y azida sódica 0,095%, estabilizantes, tensioactivos.

## ESTABILIDAD

Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta y la caja del producto cuando se almacenan a la temperatura recomendada, se sellan herméticamente y se evita la contaminación durante su uso.

Señales de deterioro de los reactivos

1. La presencia de partículas y turbidez indican deterioro de los reactivos.
2. La absorbancia del Reactivo de Trabajo leída frente al agua a 340 nm debe ser superior a 1,0 durante su uso o hasta su fecha de caducidad.

## MATERIALES REQUERIDOS Y NO SUMINISTRADOS

- espectrofotómetro UV con cubeta termostatazada;
- tubos y pipetas;

- cronógrafo.

## PRECAUCIONES Y PRECAUCIONES ESPECIALES

- Aplique las precauciones de seguridad habituales al manipular reactivos y muestras biológicas.
- Los reactivos contienen azida de sodio como conservante. Evitar el contacto con ojos, piel y mucosas. No aspirar ni ingerir.
- Recomendamos el uso de Buenas Prácticas en Laboratorio Clínico para la ejecución de la prueba.
- De acuerdo con las instrucciones de bioseguridad, todas las muestras deben manipularse como materiales potencialmente infecciosos.
- Los reactivos contienen azida de sodio como conservante. Evitar el contacto con ojos, piel y mucosas. No aspirar ni ingerir.
- Deseche los reactivos y las muestras de acuerdo con las reglamentaciones ambientales locales, estatales y federales.

## MUESTRA

SUERO o PLASMA (EDTA o heparina).

El analito es estable durante 7 días a 2-8°C. No utilice muestras hemolizadas.

**Nota:** Recomendamos que la recolección, preparación, almacenamiento y disposición de muestras biológicas se realice siguiendo las recomendaciones de Buenas Prácticas de Laboratorio Clínico.

Hacemos hincapié en que los errores derivados de la muestra pueden ser mucho mayores que los errores ocurridos durante el procedimiento analítico.

## INFLUENCIAS PREANALÍTICAS

La actividad de la enzima AST aumenta en el alcoholismo crónico.

El uso de esteroides anabólicos, clorotiazida, clorofenicol, el uso a largo plazo de aspirina, gentamicina y algunas otras drogas pueden elevar la actividad de AST.

## INTERFERENCIAS

Bilirrubina hasta 19 mg/dL, lipemia (triglicéridos hasta 650 mg/dL), hemólisis (hemoglobina hasta 45 mg/dL) y piruvato de sodio hasta 0,2 mmol/L no producen interferencias significativas.

La muestra hemolizada con hemoglobina por encima de 45 mg/dL produce una interferencia positiva significativa.

Las muestras fuertemente lipémicas e ictericas muestran una alta absorbancia a 340 nm. Cuando la actividad enzimática en estas muestras aumenta mucho, puede ocurrir un consumo muy rápido del sustrato sin una disminución significativa en la absorbancia. Por lo tanto, cuando se obtengan valores bajos de AST en estas muestras, repita la medición diluyendo el suero con una solución de NaCl de 150 mmol/L (0,85 %).

## PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

### A. Condiciones de reacción

**Lectura: Longitud de onda 340 nm**

**Temperatura: 37°C**

**Tipo de reacción: cinética continuamente decreciente**

### Preparación del reactivo de trabajo

Según el consumo, mezclar suavemente los reactivos 1 y 2 en la siguiente proporción: 4 volúmenes de Buffer (1) más 1 volumen de Coenzima (2).

El reactivo de trabajo es estable durante 10 días a 2-8 °C.

### B. Técnica de análisis sin calibrador

#### 1. Pipetear en la cubeta o tubo:

Reactivo de trabajo	1000 µL
Muestra	100 µL

2. Homogeneizar, introducir la cubeta en el portacubetas termostatazado a 37 °C y poner en marcha el cronómetro

3. Después de 1 minuto, lea la absorbancia inicial (A<sub>0</sub>)(A<sub>0</sub>).

4. Tome nuevas lecturas de absorbancia después de exactamente 1, 2 y 3 minutos.

5. Las diferencias entre absorbancias deben ser prácticamente iguales, indicando la linealidad del método

6. Calcule la disminución de absorbancia promedio por minuto (ΔA/minuto promedio).

**Precaución:** una absorbancia inicial de menos de 0,800 indica que la muestra tiene una actividad enzimática AST alta. En este caso, diluya la muestra y repita el ensayo.

## Calculos

### Ver Linealidad.

Considerando que el coeficiente de absorción milimolar del NADH a 340 nm es de 6,3, se deduce la siguiente fórmula para calcular la concentración catalítica:

U/L de AST(GOT) a 340 nm = ΔA/minuto promedio x 1746

Donde: Media ΔA/min = Cambio medio en la absorbancia por minuto.

El factor 1746 se calcula en base a las condiciones de la reacción cinética continua. Este factor debe recalcularse cada vez que se realice alguna modificación en los parámetros de reacción.



Ver método para el cálculo del factor.

#### Ejemplo

Si  $\Delta A/\text{minuto de prueba} = 0,0285$   
Actividad AST en U/L =  $\Delta A \text{ prueba} \times 1746$   
Actividad AST =  $0,0285 \times 1746 = 50 \text{ U/L}$

#### Cálculo de factores

Factor =  $(Vt \times 1000) \div (\epsilon \times Va \times d)$   
 $Vt = \text{volumen total del ensayo} = 1100 \mu\text{L}$   
 $Va = \text{volumen de muestra} = 100 \mu\text{L}$   
 $1000 = \text{conversión de U/mL a U/L}$   
 $d = \text{espesor de la cubeta, paso de luz} = 1 \text{ cm}$   
 $\epsilon = \text{Absorbancia milimolar de NADH a } 340\text{nm} = 6,3$   
Factor =  $(1100 \times 1000) \div (6,3 \times 100 \times 1) = 1746$

#### C. Técnica de Análisis con Calibrador Cat. 410 de Gold Análise.

##### 1. Pipetear en la cubeta o tubo:

Reactivo de trabajo	1000 $\mu\text{L}$
Muestra o Calibrador	100 $\mu\text{L}$

2. Homogeneizar, introducir la cubeta en el portacubetas termostatzado a 37 °C y poner en marcha el cronómetro.
3. Después de 1 minuto, lea la absorbancia inicial (A0).
4. Tome nuevas lecturas de absorbancia después de exactamente 1, 2 y 3 minutos.
5. Las diferencias entre absorbancias ( $\Delta A/\text{minuto}$ ) deben ser prácticamente iguales, indicando la linealidad del método.
6. Calcule la disminución promedio en la absorbancia por minuto del Calibrador y la Prueba ( $\Delta A/\text{promedio por minuto}$ ).

##### Los grados

1. Utilice el calibrador Gold Analyze - Cat. 410.
2. Consulte las Instrucciones de uso y el valor tabulado de AST.
3. El desempeño del Calibrador puede verse afectado por varios factores, tales como: errores de reconstitución, errores de homogeneización, almacenamiento incorrecto, contaminación del agua o la cristalería.
4. Una absorbancia inicial de menos de 0,800 indica que la muestra tiene una alta actividad de la enzima AST. En este caso, diluya la muestra y repita el ensayo.

##### Calculos

###### Ver Linealidad.

Como la metodología obedece a la ley de Lambert-Beer, los cálculos se pueden realizar utilizando el Factor de Calibración (FC).

$\Delta A \text{ promedio/minuto} = \text{Cambio promedio en la absorbancia por minuto.}$

AC = Actividad de AST del calibrador = x U/L (Ver valor de AST en la tabla de calibradores)

AT = Actividad de AST de prueba en U/L =  $\Delta A/\text{minuto de prueba} \times FC$

FC = Factor de calibración =  $AC \div \Delta A/\text{minuto promedio del calibrador}$

##### Ejemplo

Si  $\Delta A/\text{minuto promedio del calibrador} = 0,064$

Si  $\Delta A/\text{minuto de prueba promedio} = 0,022$

Si AC = 112 U/L (Valor indicado en la tabla de Calibradores)

FC =  $CA \div \Delta A/\text{promedio Calibrador minuto} = 112 \div 0,064 = 1750$

AT = Prueba de actividad AST en U/L =  $0,022 \times FC = 0,022 \times 1750 = 38 \text{ U/L}$

##### Aviso

Las técnicas presentadas son adecuadas para fotómetros cuyo volumen mínimo de solución para lectura sea igual o inferior a 1000  $\mu\text{L}$ .

El analista siempre debe verificar la necesidad de ajustar el volumen para el fotómetro utilizado en su laboratorio.

Los volúmenes de muestra y reactivo se pueden modificar proporcionalmente sin alterar el rendimiento y los cálculos de la prueba.

En caso de reducción de volúmenes, es necesario observar el volumen mínimo de lectura fotométrica.

Los volúmenes de muestra inferiores a 10  $\mu\text{L}$  son fundamentales en las aplicaciones manuales y deben utilizarse con precaución, ya que aumentan la imprecisión de la medición.

##### Conversión de unidades

Unidad convencional (U/L)  $\times 16,7 = \text{Unidad SI (nKat/L)}$

##### VALORES DE REFERENCIA (37°C)

Hombres: 11 - 39 U/L

Mulheres: 10 - 37 U/L

Estes valores devem ser usados como uma orientação. É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

##### AUTOMAÇÃO

Este kit pode ser utilizado na maioria dos analisadores automáticos.

O consumidor poderá solicitar mais informações através do Setor de Apoio ao Cliente (SAC) ou acessando o site [www.goldanalisa.com.br](http://www.goldanalisa.com.br)

##### CONTROL DE CALIDAD

El laboratorio clínico debe mantener un Programa de Garantía de Calidad para garantizar que todos los procedimientos de laboratorio se realicen de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio Clínico.

Para controlar y verificar el desempeño del kit, utilice Control Serum N y Control Serum P de Gold Analyze.

Es importante que cada laboratorio establezca sus propios valores medios y respectivos límites de variación.

#### CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

##### linealidad

La reacción es lineal hasta 400 U/L. Para valores superiores, diluir la muestra con solución de NaCl 150 mmol/L (0,85%) y realizar una nueva determinación. Multiplicar el valor obtenido por el factor de dilución utilizado.

##### Repetibilidad

La imprecisión intraensayo se calculó con 20 determinaciones sucesivas de AST utilizando dos muestras de suero de diferentes concentraciones.

Los promedios de los coeficientes de variación obtenidos fueron 2,0 y 0,8%.

##### Reproducibilidad

La imprecisión entre ensayos se calculó con 20 determinaciones de AST en días diferentes utilizando 2 muestras de suero de diferentes concentraciones.

Los promedios de los coeficientes de variación obtenidos fueron 4.0 y 2.8%.

#### 1. COMENTARIOS

2. La observación cuidadosa de la limpieza y el secado de la cristalería, la estabilidad de los reactivos, el pipeteo, la temperatura y el tiempo de reacción es extremadamente importante para obtener resultados precisos y exactos.
3. Para limpiar la cristalería, se puede utilizar un detergente neutro o una solución ácida. El último lavado debe hacerse con agua destilada o desionizada.
4. El agua utilizada en los laboratorios clínicos debe ser purificada utilizando métodos adecuados para los fines de uso. Las columnas desionizantes saturadas liberan varios iones, aminas y agentes oxidantes que deterioran los reactivos.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


1. Bergmeyer HU, Scheibe P, Wahlefeld AW. Clin Chem 1978;24:58.
2. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Fundamento de Química Clínica, 4a Ed - Guanabara Koogan SA; 1998.
3. Gella FJ et al. Clin Chim Acta 1985; 153-241-247.
4. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. J Clin Chem Clin Biochem 1986; 24:497-510.
5. Karmen A. J Clin Invest 1955;34:131.
6. Lopes HJJ. Enzimas no Laboratório Clínico-Aplicações Diagnósticas. Belo Horizonte, Analisa Diagnóstica, 1998.
7. Sociedad Española de Química Clínica, Comité Científico, Comisión de Enzimas. Quim Clin 1987; 6:235-239.
8. Westgard JO, Groth T. Clin. Chem. 1981;27:493-501.

#### 9. GOLD ANALISA: Dossiê Técnico do Produto

#### TÉRMINOS Y CONDICIONES DE LA GARANTÍA DE CALIDAD DEL PRODUCTO Ley N° 8078 del 11-9-90 - Código de Protección al Consumidor

Gold Análise garantiza la reposición, sin cargo para el consumidor, de todos los productos que demuestren tener problemas técnicos, siempre que el usuario utilice equipos y materiales en buenas condiciones técnicas, siga estrictamente el procedimiento técnico y las recomendaciones establecidas en las Instrucciones de uso. Número de lote y fecha de caducidad: consulte las etiquetas del producto Gold Análise Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16 AF MS No. 800222-3 - MS Reg. - No. 80022230083 Granja. respuesta Isabela Fernandes dos Santos - CRF -MG:16773 Av. Nossa Senhora de Fátima, 2363 - Carlos Prates - Teléfono: (31) 3272-1888 Belo Horizonte MG Brasil CEP: 30710-020 Página de inicio: [www.goldanalisa.com.br](http://www.goldanalisa.com.br) Correo electrónico: [goldanalisa@goldanalisa.com.br](mailto:goldanalisa@goldanalisa.com.br) Sector de Atención al Cliente (SAC): 0800 703 1888

#### Análise es una marca registrada de Gold Análise Diagnóstica Ltda.

SIMBOLOGIA			
	Número de catálogo		Límite de temperatura
	Número de lote		Número de pruebas
	Producto de diagnóstico in vitro		Consultar instrucciones de uso
	Plazo de uso		Fabricado por

Revisión: 04/22