

REF 10206-4 4 X 28 mL / 10 mL

ASPARTATO AMINOTRANSFERASE (AST)

Cada frasco em forma de cunha contém volume útil de 28 mL do reagente R1. O frasco de 10 mL contém 10 mL do reagente R2.

INDICAÇÃO DE USO

O reagente AST EasyRA é destinado à determinação quantitativa da enzima aspartato aminotransferase no soro e plasma humanos (com heparina de lítio como anticoagulante), usando o "analisador bioquímico EasyRA®" da MEDICA. As medições de aspartato aminotransferase são usadas no diagnóstico e no tratamento de determinados tipos de doenças do fígado e do coração.

Para uso em diagnósticos *in vitro*. Somente para uso profissional.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

A aspartato aminotransferase é uma enzima encontrada principalmente no fígado, no coração, nas células vermelhas do sangue e no tecido muscular.¹ Danos às células desses tecidos resultam em um aumento do nível de AST no soro, proporcional à extensão dos danos. O nível de AST também é consideravelmente elevado em pacientes com hepatite viral e cirrose e nos casos de infarto do miocárdio.^{2,3}

PRINCÍPIO DO PROCEDIMENTO

Esta análise baseia-se em uma série de reações, conforme descrito abaixo. Primeiro, a enzima AST catalisa a transferência do grupo amina do Aspartato para o α -Cetoglutarato (α -KG), formando L-glutamato e oxaloacetato (OAA).

AST

L-Aspartato + α -KG \rightarrow OAA + L-Glutamato

O OAA é então reduzido a L-malato pela reação com NADH; essa reação é catalisada pela malato desidrogenase (MDH).

MDH

OAA + NADH + H⁺ \rightarrow L-Malato + NAD⁺

Nessa segunda reação, a quantidade de NADH que é oxidada em NAD resulta na diminuição da absorbância a 340 nm. Essa diminuição é acompanhada por espectrofotometria e é diretamente proporcional à atividade da AST no soro. A lactate desidrogenase (LDH) é incluída no reagente para reduzir rapidamente qualquer piruvato presente no soro, minimizando a interferência na análise. O método inicial foi desenvolvido por Karmen^{4,5} e otimizado por Bergmeyer, et al.⁶ A metodologia da análise de AST EasyRA baseia-se no método recomendado pela IFCC.⁷

REAGENTES

Reagente Tampão para AST (R1):

Tampão Tris, pH 7,65 (30 °C)	110 mmol/L
L-Aspartato	320 mmol/L
LDH (microrganismo)	≥ 1200 U/L
MDH (músculo suíno)	≥ 800 U/L

Reagente Substrato de AST (R2):

α -Cetoglutarato	85 mmol/L
NADH (sal dissódico)	1 mmol/L

PRECAUÇÕES

1. As boas práticas de segurança em laboratórios devem ser seguidas para o manuseio de qualquer reagente (CLSI, GP17-A3).
2. Os reagentes contêm menos de 0,1% de azida de sódio, que pode reagir com tubulações de chumbo e cobre e formar azidas metálicas altamente explosivas. Consulte a Folha de Informações sobre Segurança para informações sobre riscos e medidas de segurança.
3. Como para qualquer procedimento de teste de diagnóstico, os resultados devem ser interpretados considerando-se os resultados de outros testes e o estado clínico do paciente.
4. Não utilize cubetas lavadas.

INSTRUÇÕES DE MANUSEIO, ARMAZENAGEM E ESTABILIDADE DO REAGENTE

Os reagentes R1 e R2 devem ser misturados no frasco divisório antes de serem utilizados. Os reagentes permanecerão estáveis em frasco fechado até a data de validade informada no rótulo desde que armazenados a 2 - 8 °C. O reagente pronto permanece estável a bordo do analisador bioquímico EasyRA pelo número de dias programado no chip RFID encontrado no frasco. Não utilize o reagente se estiver turvo ou opaco ou se os valores conhecidos para controle de soro não forem obtidos. Proteja da luz.

COLETA E ARMAZENAGEM/ESTABILIDADE DA AMOSTRA

Tubos revestidos com heparina de lítio podem ser usados para a coleta de plasma. Amostras não hemolisadas e límpidas devem ser utilizadas. A AST permanece estável no soro ou plasma por até 7 dias a 2 - 8 °C.^{8,9}

Limitações

A hemólise deve ser evitada, pois a concentração de AST nas células vermelhas do sangue é aproximadamente 10 vezes maior do que no soro.¹⁰ Amostras hemolisadas com hemoglobina ≥ 250 mg/dL podem elevar os valores de AST em 6 U/L ou mais.

PROCEDIMENTO

Materiais Fornecidos

Frasco de Reagente/Frasco de R2 para AST Medica, REF 10206-4

Materiais adicionais necessários

Controle de Qualidade EasyCQ® Medica – Nível A para química/eletrólitos, REF 10793

Controle de Qualidade EasyCQ® Medica – Nível B para química/eletrólitos, REF 10794

Frasco de Corante Medica para Teste de Precisão, REF 10764

Frasco de Solução de Limpeza Medica – Química e ISE, REF 10660 *ou*

Frasco de Solução de Limpeza Medica – Química, REF 10661

Instruções de Uso

Os reagentes R1 e R2 devem ser misturados no frasco divisório antes de serem utilizados. O reagente R1 vem no frasco divisório em forma de cunha. Adicione todo o conteúdo do frasco pequeno de reagente R2 no frasco em forma de cunha e misture bem por inversão antes do uso. Haverá um total de 38 mL de reagente pronto para ser utilizado após a mistura. Remova a tampa do reagente pronto e coloque-o na bandeja do analisador bioquímico EasyRA, localizada na área reservada para reagentes. A estabilidade a bordo (44 dias no máximo) do reagente pronto encontra-se programada no chip RFID do frasco divisório.

Observação: Após remover a tampa e colocar o frasco no analisador, verifique se há espuma no interior do gargalo do frasco. Se houver espuma, remova com um swab ou com uma pipeta descartável antes de executar o teste.

Calibração

Não aplicável.

Controle de Qualidade

Recomenda-se a execução de dois níveis de controle baseado em soro humano (normal e anormal) junto com a análise diariamente, sempre que forem executados testes de paciente, e a cada troca de lote de reagente. A não obtenção de valores dentro do intervalo adequado a partir da análise do material de controle pode indicar deterioração do reagente, mau funcionamento do instrumento ou erros de procedimento. O laboratório deve seguir as diretrizes municipais, estaduais e federais de controle de qualidade ao usar materiais de controle de qualidade.

Resultados

Após a finalização da análise, o analisador bioquímico Easy RA calcula a concentração de AST a partir da alteração na absorbância por minuto, volume da amostra, volume total de reação, comprimento de trajetória (cm) de 0,6 e absorvidade molar de 6,22.

$$\text{AST (U/L)} = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{Volumetotal}(\mu\text{L}) \times 1000)}{(\text{Absortivademolar} \times \text{Comp.trajetória}(\text{cm}) \times \text{Volumede amostra}(\mu\text{L}))}$$

A unidade U/L de atividade da AST representa a quantidade de enzimas que oxidam um $\mu\text{mol/L}$ de NADH por minuto.

VALORES ESPERADOS¹¹

O intervalo de referência para AST em soro é o seguinte:

Normal: 8-40 U/L (37 °C)

Esses valores são orientativos. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de valores esperados, considerando-se as diferenças entre os instrumentos, as instalações laboratoriais e as populações locais.

Limitações do Procedimento (por exemplo, amostra ultrapassa o intervalo do exame)

Devem ser usadas apenas amostras não hemolisadas. Evite usar amostras visivelmente turvas.

Se a Alteração de Absorbância por Minuto ($\Delta A/\text{Min}$) for maior do que 0,0643, o que corresponde a 400 U/L, será sinalizada como "SD" (esgotamento de substrato) pelo analisador. As alterações de absorbância por minuto que ultrapassarem essa taxa estarão acima do intervalo linear do teste. Se o ícone de novo teste for selecionado pelo operador, a amostra poderá ser testada novamente usando metade (1/2) do volume da amostra. Os resultados do novo teste são calculados para refletir o uso de um volume menor da amostra. Isso deverá estender o intervalo reportável do teste de AST até 800 U/L.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO¹²

Intervalo reportável

O intervalo reportável vai de 5,5 a 400 U/L. O intervalo estendido vai de 5,5 a 800 U/L quando metade da amostra é usada (diluição 1:1).

Inexatidão/Correlação (CLSI, EP09-A2)

A tabela a seguir lista os dados obtidos em uma comparação do desempenho do novo reagente para AST Medica (y) no analisador bioquímico EasyRA, com o desempenho do reagente para AST anterior (x) no analisador bioquímico EasyRA. Os dados mostrados abaixo são determinações avulsas com o novo reagente para AST Medica no analisador bioquímico EasyRA comparadas à média de dois valores replicados obtidos com o reagente para AST Medica anterior no analisador bioquímico EasyRA

Número de amostras	80	Intervalo de amostras	10,3 a 389,5 U/L
Declive	1,0203	Intercepta y	-1,183
Coefficiente de Correlação	0,9997	Equação de regressão:	$Y = 1,0203 * X - 1,183$

A tabela a seguir lista os dados obtidos em uma comparação de amostras correspondentes de soro (x) e plasma (y) usando o reagente para AST Medica no analisador bioquímico EasyRA. Os dados mostrados abaixo são determinações avulsas de plasma comparadas à média de dois valores replicados de soro.

Número de amostras	60	Intervalo de amostras	10,6 a 340,4 U/L
Declive	0,9902	Intercepta y	0,3133
Coefficiente de Correlação	0,9988	Equação de regressão	$Y = 0,9902 * X + 0,3133$

Imprecisão (CLSI, EP05-A2)

Medições duplicadas de cada um dos três níveis do material de CQ foram testadas duas vezes ao dia, por 20 dias. Tanto a precisão durante a rodada quanto a precisão total foram determinadas a partir desses dados.

Imprecisão em uma mesma rodada:

Nível de CQ U/L	SD na Rodada U/L	CV na Rodada %
234,9	1,76	0,75
102,8	0,82	0,79
37,8	1,08	2,86

Imprecisão Total:

Nível de CQ U/L	SD de Imprecisão Total U/L	CV de Imprecisão Total %
234,9	1,97	0,84
102,8	1,14	1,11
37,8	1,23	3,25

Linearidade (CLSI, EP06)

Linear de 5,5 a 400 U/L, com base na regressão linear $Y = 0,9975 * X + 0,0049$.

Limite de branco (LOB):	3,1 U/L	(CLSI, EP17-A)
Limite de detecção (LOD):	4,1 U/L	(CLSI, EP17-A)

Substâncias Interferentes (CLSI, EP07)

Interferência de até 10% foi classificada como "nenhuma interferência significativa".

Há interferência significativa de hemólise. A hemólise deve ser evitada, pois a concentração de AST nas células vermelhas do sangue é aproximadamente 10 vezes maior do que no soro.⁹ Não utilize amostras hemolisadas.

Nenhuma interferência significativa foi observada em níveis de até 28 mg/dL de bilirrubina.

Nenhuma interferência significativa foi observada em níveis de até 1500 mg/dL de triglicérides (usando Intralipid*).

Nenhuma interferência significativa foi observada em níveis de até 30 mg/dL de ácido ascórbico.

*Intralipid é marca comercial registrada da Pharmacia AB, Clayton, NC.

Young fornece uma lista de medicamentos e outras substâncias que podem interferir em testes clínicos químicos.^{13, 14}

REFERÊNCIAS

- 1 Wilkensen JH. *Principles and Practice for Diagnosis Enzymology*. YearBook Medical Publishers, 1976.
- 2 Kachmar JR: *Enzymes. In Fundamentals of Clinical Chemistry*. NW Tietz, Editor, Saunders, Philadelphia 1976, p 674.
- 3 Sacks HJ, Lanchantin GF; *An elevation of serum transaminase in the jaundice state*. Am J Clin Pathol 33:97, 1960.
- 4 Karmen A., Wroblewski E, La Due JS. *J Clin. Invest.* 1955; 34: 126.
- 5 Karmen A., *J. Clin. Invest.*. 1955; 34: 131.
- 6 Bergmeyer HU, Scheibe P, Wahlefeld AW. *Clin Chem* 24: 58, 1978.
- 7 Expert Panel of Enzymes of the International Federation of Clinical Chemistry (IFCC): *Part 3 Revised IFCC method for Aspartate Aminotransferase*. *Clin Chem* 24:720 1978.
- 8 IFCC. *Provisional Recommendation on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentrations of Enzymes*. *Clin Chem* 23: 887, 1977. Guder WG. Zawta B et al. *The Quality of Diagnostic Samples*. 1st ed. Darmstadt: GIT; 2001;p. 18-19
- 9 Demetriou JA et al. *In Clinical Chemistry – Principles and Technics* 2nd ed. RJ Henry et al. Eds. Harper & Row, Hagerstown, MD, 1974, p 873.
- 11 Tietz NW, ed. *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1995: 76.
- 12 Dados arquivados na Medica.
- 13 Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*, 2nd ed. Washington, DC. AACC Press; 1997.
- 14 Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995.

PARÂMETROS DE ANÁLISE DO EASYRA (AST)

Comprimento de Onda (nm)	340/405 nm
Tipo de reação	Enzimática (0)
Direção do reagente	Decrescente
Branco de reagente	Não
Branco de amostra	Não
Alter. de abs. máx. no 1º int.	0,026
Tempo de reação	7,2 min.
Intervalo de calibração (máximo)	N/D
Estabilidade a bordo do reagente	44 dias

Soro/plasma

Volume de amostra (µl)	8
Volume de diluente (µl)	32
Volume de reagente (µl)	144
Casas decimais (padrão)	1
Unidades (valores padrão)	U/L
Fator de diluição	1:1 (para extensão de intervalo de medição)
Linearidade	5,5 a 400 U/L