

AST (ASAT/GOT)

0
6
2

Português - 1999-06 - 2142996001 01 01

AST IFCC sem/com activação por fosfato de piridoxal

● Indica os analisadores nos quais os kits podem ser utilizados

Ref.	Frasco	Conteúdo	704	717	737	747	902	904	911 912	914	917	MODULAR	
													P
851124	1	Tampão, 12 x 50 ml											
	1a	Enzimas/coenzimas, 1 x 24 comprimidos de reagente	●				●	●	●				
	2	α-Cetogluturato, 3 x 44 ml											

Alguns dos analisadores podem não ser comercializados em todos os países. Para outras aplicações do sistema, contacte o seu representante local da Roche.

Produto registado no INFARMED

AST IFCC sem activação por fosfato de piridoxal

Função

Teste para determinação quantitativa *in vitro* da aspartato-aminotransferase (AST) em soro e plasma humanos, utilizando analisadores automáticos de química clínica.

Características¹⁻⁴

A aspartato aminotransferase (glutamato-oxaloacetato-transaminase) pertence ao grupo das transaminases que catalisam a interconversão dos aminoácidos para os α-cetoácidos correspondentes através da transferência de grupos amino. A aspartato-aminotransferase encontra-se amplamente distribuída pelos tecidos humanos. Embora as concentrações mais elevadas se registem no músculo cardíaco, é também possível detectar uma actividade significativa no cérebro, fígado, mucosas gástricas, tecido adiposo, musculatura esquelética e rins.

A AST está presente tanto no citoplasma como nas mitocôndrias das células. Em casos que envolvem lesões tissulares ligeiras, a forma predominante de AST é a libertada pelo citoplasma, com uma menor quantidade libertada pelas mitocôndrias. Nos casos de lesões mais graves, observa-se libertação de uma maior quantidade do enzima da mitocôndria. Os níveis de transaminases elevados podem ser indicadores de enfarte do miocárdio, hepatopatias, distrofia muscular e lesões dos órgãos internos.

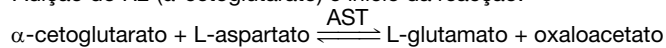
Em 1955, Karmen et al. descreveram a primeira determinação cinética da actividade da AST no soro. Em 1977 e 1980, a International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) recomendou a aplicação de métodos padronizados para determinação da AST, incluindo a optimização de concentrações de substrato, o uso de tampões TRIS*, a pré-incubação simultânea do soro com tampão para permitir a ocorrência de reacções secundárias com o NADH, início com substrato e activação opcional por fosfato de piridoxal. O método aqui descrito baseia-se no método de referência do IFCC.

*TRIS = Tris(hidroximetil)-aminometano

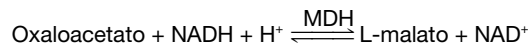
Princípio do teste⁴

Teste UV de acordo com um método padronizado

- Amostra e adição do R1 (tampão/enzimas/coenzima)
- Adição do R2 (α-cetogluturato) e início da reacção:



O enzima AST catalisa esta reacção de equilíbrio. O aumento do oxaloacetato é determinado numa reacção indicadora catalisada pela malato-desidrogenase.



O NADH é oxidado para NAD. A velocidade de diminuição do NADH (medido fotometricamente) é directamente proporcional à velocidade de formação do oxaloacetato e, logo, à actividade da AST.

Concentrações das soluções de trabalho

R1 Tampão/enzimas/coenzima (frascos 1 e 1a)

Tampão TRIS: 100 mmol/l, pH 7,8; L-aspartato: 300 mmol/l; NADH: 0,23 mmol/l (levedura); MDH ≥ 0,53 U/ml (coração de porco); LDH ≥ 0,75 U/ml (microrganismos); conservante

R2 α-Cetogluturato (frasco 2)

α-Cetogluturato: 75 mmol/l; conservante

Precauções e advertências

Para utilização em diagnóstico *in vitro*.

Respeite as precauções normais de manuseamento de reagentes laboratoriais.

Preparação dos reagentes

1876848

R1: Para preparar 50 ml, dissolva dois comprimidos de reagente do frasco 1a no frasco 1, agitando suavemente.

Para séries mais pequenas, dissolva 1 comprimido de reagente do frasco 1a em 25 ml de tampão do frasco 1 agitando suavemente.

R2: Pronto a ser utilizado.

Conservação e estabilidade

Componentes no kit fechado: até ao fim do prazo de validade indicado quando conservado a 2–8°C

R1: 28 dias aberto e refrigerado no analisador

R2: 90 dias aberto e refrigerado no analisador

Colheita e preparação das amostras

O soro é recolhido em tubos de amostra standard.

Plasma tratado com heparina ou com EDTA.

Estabilidade⁵: 24 horas a 20–25°C

7 dias a 20–25°C (com activação por fosfato de piridoxal)

7 dias a 2–8°C

Separe o soro/plasma do coágulo/células no espaço de 8 horas, à temperatura ambiente, ou 48 horas, a 2–8°C.

As amostras que contêm precipitado têm de ser centrifugadas antes da realização do ensaio.

Componentes do teste

Material fornecido

• Soluções de trabalho, conforme descritas acima.

Outros materiais necessários

- Calibradores e controlos conforme indicado abaixo.
- NaCl a 0,9%

Realização do ensaio

Consulte o manual do operador apropriado e/ou a secção relativa às definições do analisador nesta bula para obter instruções mais específicas sobre o analisador. Quando se executam ensaios não validados pela Roche, esta não garante os resultados, pelo que esses ensaios devem ser definidos pelo utilizador.

Calibradores

S1: NaCl a 0,9%

S2: C.f. a. s. (Calibrador para sistemas automáticos)

Ao programar o equipamento, determine o factor K.

Frequência da calibração

Recomenda-se a realização de uma calibração contra branco:

- após mudança do lote de reagente
- conforme necessário de acordo com os procedimentos de controlo necessários

Verificação da calibração: não é necessária.

Controlo de qualidade

Para o controlo de qualidade, utilize o Precinorm U, Precinorm E, Precipath U, Precipath E ou outros materiais de controlo adequados. Os intervalos e os limites de controlo deverão ser adaptados às exigências específicas de cada laboratório e aos requisitos específicos de cada país. Os valores obtidos devem situar-se dentro dos intervalos definidos.

Cada laboratório deverá estabelecer as suas próprias normas no que diz respeito às medidas correctivas a tomar no caso de os valores se situarem fora do intervalo definido.

Cálculo

Os analisadores Roche/Hitachi calculam automaticamente a actividade de AST de cada amostra.

Factores de conversão: U/l x 0,0167 = µkat/l

Limitações - interferências^{6,7}

Crítério: recuperação dentro de ± 10% dos valores iniciais.

A hemólise interfere devido à actividade da AST dos eritrócitos.

Icterícia: Nenhuma interferência significativa até um índice I de 60 (concentração aprox. de bilirrubina conjugada e de bilirrubina não-conjugada: 60 mg/dl).

Lipemia (Intralipid): Nenhuma interferência significativa até um índice L de 500 (concentração aproximada de triglicéridos: 1000 mg/dl). Existe uma relação fraca entre a turbidez e a concentração de triglicéridos. A lipemia pode provocar uma absorvância diminuída em resultado de um aumento da absorção.



1164

AST (ASAT/GOT)

Intervalo de medição/referência

4–800 U/l (0,07–13,34 μ kat/l)

Determine as amostras com actividades superiores através da função de reanálise. Nos analisadores sem função de reanálise, dilua manualmente as amostras com NaCl a 0,9% ou água destilada/desionizada (p. ex., 1 + 2). Multiplique o resultado pelo factor de diluição apropriado. (p. ex., 3).

Valores teóricos baseados no método IFCC e no método padrão optimizado da DGKC (1972).

		25°C ^{8,9}	30°C ^{**}	37°C ^{**}
U/l	Homens	até 18	até 25	até 38
	Mulheres	até 15	até 21	até 32
μ kat/l	Homens	até 0,30	até 0,42	até 0,63
	Mulheres	até 0,25	até 0,35	até 0,53

** Valores calculados

Factores utilizados para a conversão de valores de 25°C: 1,37 (30°C) e 2,13 (37°C).

Cada laboratório deve verificar se os valores teóricos podem ser aplicados à sua própria população de doentes e, se necessário, determinar os seus próprios valores de referência. Quando o objectivo é o diagnóstico, os resultados da AST devem ser sempre interpretados em conjunto com a anamnese do doente, exames clínicos e outros resultados.

Dados específicos sobre o desempenho do teste

São apresentados a seguir dados representativos do desempenho utilizando um analisador Roche/Hitachi. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

Imprecisão⁶

A reprodutibilidade foi determinada utilizando amostras e controlos humanos num protocolo interno (intra-ensaio: n = 21, entre dias: n = 10). Obtiveram-se os seguintes resultados:

Amostra	Intra-ensaio			Entre dias		
	Média	SD	%CV	Média	SD	%CV
	U/l	U/l		U/l	U/l	
Soro humano	58	1,02	1,8	58	1,82	3,2
Precitrol-N	32	0,69	2,1	32	1,02	3,2
Precitrol -A	124	1,33	1,1	124	2,17	1,8

SD = desvio-padrão (Standard Deviation)

CV = coeficiente de variação

Sensibilidade analítica (limite de detecção inferior)⁶

Limite de detecção: 4 U/l (0,07 μ kat/l)

O limite de detecção inferior representa a actividade mais baixa de AST passível de ser distinguida de zero. É calculado como 3 desvios-padrão de 21 repetições do padrão mais baixo.

Comparação dos métodos⁶

Uma comparação do ensaio da AST com um volume de amostra de 10 μ l (y) com o ensaio de 20 μ l (x), utilizando o reagente AST IFCC da Roche num analisador Roche/Hitachi 911, teve como resultado as seguintes correlações (U/l):

Passing/Bablok^{10,11}

y = -0,93 + 1,01 x

r = 1,000

SD (md 95) = 0,8

Número de amostras medidas: 91

A actividade das amostras variou entre 11 e 690 U/l.

Regressão linear

y = -0,75 + 1,01 x

r = 1,000

Sy.x = 1,6

Bibliografia

- 1 Greiling H, Gressner AM (eds.). Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3. ed. Stuttgart/New York: Ed. Schattauer, 1995.
- 2 Schmidt FW. Ref Med Ges, Marburg/Lahn, December 1959.
- 3 Karmen A et al. J Clin Invest 1955;24:126.
- 4 Bergmeyer HU, Hörder M, Rej R. Approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 2. IFCC Method for aspartate aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1986;24:497–508.
- 5 Tietz NW (Ed.). Clinical Guide to Laboratory Tests, 3. ed. Philadelphia, PA: WB Saunders, 1995:76–77.
- 6 Documentação de Roche
- 7 Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470–474.
- 8 Wallnöfer H, Schmidt E, Schmidt FW (Hrsg.). Synopsis der Leberkrankheiten. Stuttgart: Ed. Georg Thieme, 1974.
- 9 Thefeld W et al. Dtsch med Wschr 1974;99:343.
- 10 Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709–720.
- 11 Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783–790.



AST (ASAT/GOT)

Português - 1999-06 - 2142996001 03 01

AST IFCC com activação por fosfato de piridoxal (Método Padrão 94)

São necessários comprimidos de fosfato de piridoxal
400939 Kit com 1 x 25 comprimidos

Função

Teste para determinação quantitativa *in vitro* da aspartato-aminotransferase (AST), com activação por fosfato de piridoxal, em soro e plasma humanos, utilizando analisadores automáticos de química clínica.

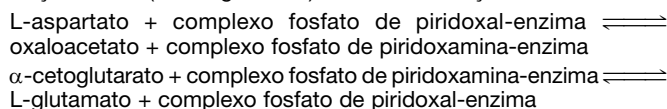
Características¹

O presente ensaio está em conformidade com as recomendações da IFCC.

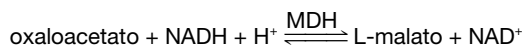
Princípio do teste^{1,2}

Teste UV de acordo com um método padronizado

- Amostra e adição do R1 (tampão/enzimas/coenzima/fosfato de piridoxal)
- Adição do R2 (α -cetoglutarato) e início da reacção:



O fosfato de piridoxal é um coenzima que transfere um grupo amina de um aminoácido (aspartato) para um outro aminoácido (glutamato), através do α -cetoácido correspondente. No processo, o aspartato reage para oxaloacetato. A adição do fosfato de piridoxal à mistura de reacção assegura uma actividade catalítica máxima, ao passo que a adição do α -cetoglutarato provoca a re-libertação do fosfato de piridoxal e, por conseguinte, reactiva a reacção da transaminase. O aumento do oxaloacetato é determinado na reacção indicadora catalisada pela malato-desidrogenase.



O NADH é oxidado para NAD. A velocidade de diminuição do NADH, determinada por meios fotométricos, é directamente proporcional à velocidade de formação do oxaloacetato e, logo, à actividade da ALT.

Concentrações das soluções de trabalho

R1 Tampão/enzimas/coenzima/fosfato de piridoxal (frascos 1 e 1a, comprimidos de fosfato de piridoxal)
Tampão TRIS*: 100 mmol/l, pH 7,8; L-aspartato: 300 mmol/l; NADH: 0,23 mmol/l (levedura); MDH \geq 0,53 U/ml (coração de porco); LDH \geq 0,75 U/ml (microrganismos); fosfato de piridoxal \geq 120 μ mol/l; conservante

R2 α -Cetoglutarato (frasco 2)

α -Cetoglutarato: 75 mmol/l; conservante

Preparação dos reagentes

R1: Para preparar 50 ml de reagente, transfira 2 comprimidos de reagente do frasco 1a para o frasco 1 e dissolva agitando suavemente. Imediatamente depois, adicione 2 comprimidos de fosfato de piridoxal e deixe dissolver.

Para séries mais pequenas, dissolva 1 comprimido de reagente do frasco 1a em 25 ml de tampão do frasco 1 agitando suavemente. Adicione 1 comprimido de fosfato de piridoxal ao reagente e deixe dissolver.

R2: Pronto a ser utilizado.

Conservação e estabilidade

Componentes no kit fechado: até ao fim do prazo de validade indicado quando conservado a 2–8°C

R1: 6 dias aberto e refrigerado no analisador

R2: 90 dias aberto e refrigerado no analisador

Consulte a secção referente ao método AST IFCC sem activação por fosfato de piridoxal para informações sobre a colheita e preparação de amostras, procedimento de teste, doseamento, calibração, controlo

de qualidade, cálculo, interferências e intervalo de medição.

Valores teóricos de acordo com a IFCC/Método Padrão 94 com activação por fosfato de piridoxal

		30°C***	37°C ³
U/l	Homens	7–35	10–50
	Mulheres	7–24,5	10–35
μ kat/l	Homens	0,12–0,60	0,17–0,85
	Mulheres	0,12–0,40	0,17–0,60

*** O factor 0,70 foi utilizado para a conversão de 37°C para 30°C

Dados específicos sobre o desempenho do teste

São apresentados a seguir dados representativos do desempenho utilizando um analisador Roche/Hitachi. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

Imprecisão⁵

A reprodutibilidade foi determinada utilizando amostras e controlos humanos num protocolo interno (intra-ensaio: n = 21, entre dias: n = 10). Obtiveram-se os seguintes resultados:

Amostra	Intra-ensaio			Entre dias		
	Média U/l	SD U/l	%CV	Média U/l	SD U/l	%CV
Soro humano	143	0,99	0,7	101	2,90	2,9
Precinorm U	81	3,20	4,0	74	2,50	3,4
Precipath U	174	1,43	0,8	161	3,00	1,9

SD = desvio-padrão (Standard Deviation)

CV = coeficiente de variação

Comparação dos métodos⁵

Uma comparação do ensaio AST com um volume de amostra de 10 μ l (y) com o ensaio de 20 μ l (x), utilizando o reagente AST IFCC com fosfato de piridoxal da Roche num analisador Roche/Hitachi 911, teve como resultado as seguintes correlações (U/l):

Passing/Bablok^{6,7}

$y = -0,24 + 1,01 x$

$r = 1,000$

SD (md 95) = 4,3

Regressão linear

$y = -1,21 + 1,02 x$

$r = 1,000$

Sy.x = 2,9

Número de amostras medidas: 91

A actividade das amostras variou entre 12 e 857 U/l.

Bibliografia

- 1 Bergmeyer HU, Hørdler M, Rej R. Approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 2. IFCC Method for aspartate aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1986;24:497–508.
- 2 Keller H (Ed.). Klinisch-chemische Labordiagnostik für die Praxis, 2. ed. Stuttgart/New York, Ed.: Georg Thieme, 1991.
- 3 Klauke R, Schmidt E, Lorentz K. Recommendations for carrying out standard ECCLS procedures (1988) for the catalytic concentrations of creatine kinase, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and γ -glutamyltransferase at 37°C. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1993;31:901–909.
- 4 Tietz NW (ed.). Clinical Guide to Laboratory Tests, 3. ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Co, 1995:76–77.
- 5 Documentação da Roche
- 6 Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709–720.
- 7 Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783–790.



AST (ASAT/GOT)

Definições do analisador Roche/Hitachi 904/911/912

Introduza os parâmetros da aplicação a partir da disquete da aplicação ou da folha com o código de barras, conforme mais adequado.

Determinação sem fosfato de piridoxal

Roche/Hitachi 704

Temperatura: 30°/37°C

PROGRAM 2 CHEMISTRY PARAMETERS	
TEST	[AST]
ASSAY CODE	[5(RATE A)]-[19]-[32]
SAMPLE VOLUME	[15]
R1 VOLUME	[350]-[50]-[NO]
R2 VOLUME	[70]-[50]-[NO]
WAVELENGTH	[700]-[340]
CALIB. METHOD	[LINEAR]-[0]-[0]
STD. (1) CONC.-POS.	[__]-[__]
STD. (2) CONC.-POS.	[__]-[__]
STD. (3) CONC.-POS.	[0]-[0]
STD. (4) CONC.-POS.	[0]-[0]
STD. (5) CONC.-POS.	[0]-[0]
STD. (6) CONC.-POS.	[0]-[0]
UNIT	[__]
SD LIMIT	[0.1]
DUPLICATE LIMIT	[100]
SENSITIVITY LIMIT	[0]
ABS. LIMIT (INC/DEC)	[5500]-[DECREASE]
PROZONE LIMIT	[0]-[LOWER]
EXPECTED VALUE	[__]-[__]
INSTRUMENT FACTOR	[1.00]

— Dados introduzidos pelo operador

Determinação com fosfato de piridoxal

Roche/Hitachi 704

Temperatura: 30°/37°C

PROGRAM 2 CHEMISTRY PARAMETERS	
TEST	[AST]
ASSAY CODE	[5(RATE A)]-[19]-[32]
SAMPLE VOLUME	[15]
R1 VOLUME	[350]-[50]-[NO]
R2 VOLUME	[70]-[50]-[NO]
WAVELENGTH	[700]-[340]
CALIB. METHOD	[LINEAR]-[0]-[0]
STD. (1) CONC.-POS.	[__]-[__]
STD. (2) CONC.-POS.	[__]-[__]
STD. (3) CONC.-POS.	[0]-[0]
STD. (4) CONC.-POS.	[0]-[0]
STD. (5) CONC.-POS.	[0]-[0]
STD. (6) CONC.-POS.	[0]-[0]
UNIT	[__]
SD LIMIT	[0.1]
DUPLICATE LIMIT	[100]
SENSITIVITY LIMIT	[0]
ABS. LIMIT (INC/DEC)	[7500]-[DECREASE]
PROZONE LIMIT	[0]-[LOWER]
EXPECTED VALUE	[__]-[__]
INSTRUMENT FACTOR	[1.00]

—Dados introduzidos pelo operador

Roche/Hitachi 902

No.	<Chemistry>	sem P-5-P	com P-5-P
1	Test Name	AST	
2	Assay Code (Mthd)	RATE A	
3	Assay Code (2. Test)	0	
4	Reaction Time	5	10
5	Assay point 1	9	22
6	Assay point 2	17	35
7	Assay point 3	0	
8	Assay point 4	0	
9	Wavelength (SUB)	700	
10	Wavelength (MAIN)	340	
11	Sample Volume	10.0	
12	R1 Volume	250	
13	R1 Pos.	
14	R1 Bottle Size	Large	
15	R2 Volume	50	0
16	R2 Pos.	0
17	R2 Bottle Size	Large	Small
18	R3 Volume	0	50
19	R3 Pos.	0
20	R3 Bottle size	Small	Large
21	Calib. Type (Type)	Linear	
22	Calib. Type (Wght)	0	
23	Calib. Conc. 1	0.0	
24	Calib. Pos. 1	
25	Calib. Conc. 2	
26	Calib. Pos. 2	
27	Calib. Conc. 3	0	
28	Calib. Pos. 3	0	
29	Calib. Conc.4	0	
30	Calib. Pos. 4	0	
31	Calib. Conc. 5	0	
32	Calib. Pos. 5	0	
33	Calib. Conc. 6	0	
34	Calib. Pos. 6	0	
35	S1 ABS.	0	
36	K Factor	10000	
37	K2 Factor	10000	
38	K3 Factor	10000	
39	K4 Factor	10000	
40	K5 Factor	10000	
41	A Factor	0	
42	B Factor	0	
43	C Factor	0	
44	SD Limit	0.1	
45	Duplicate Limit	15	
46	Sens Limit	125	140
47	S1 ABS. Limit (L)	-32000	
48	S1 ABS. Limit (H)	32000	
49	ABS. Limit	5500	7500
50	ABS. Limit (D/I)	Decrease	
51	Prozone Limit	0	
52	Proz Limit (Upp/Low)	Lower	
53	Prozone (Endpoint)	35	
54	Expect. Value (L)	
55	Expect. Value (H)	
56	Instr. Fact. (a)	1.0	
57	Instr. Fact. (b)	0.0	
58	Key setting	

.... Dados introduzidos pelo operador
P-5-P = Fosfato de piridoxal

Para mais informações, consulte o manual do operador dos sistemas Roche/Hitachi, as folhas da aplicação respectiva e as bulas dos calibradores e dos soros de controlo.

Precinorm and Precipath are trademarks of a member of the Roche Group.

© 1999 Roche Diagnostics

Fabricado por:
Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim, Alemanha
Distribuidor em Portugal:
Roche Farmacêutica Química, Lda, 2700 Amadora

Junho de 1999

