

GOT (ASAT) IFCC mod.

MÉTODO:

Cinético - UV.

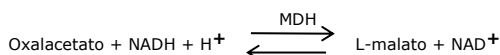
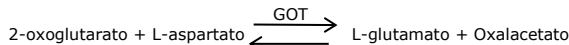
FINALIDADE:

Reagentes para a determinação da atividade do aspartato aminotransferase GOT (ASAT) em amostras biológicas, na faixa do UV. Somente para uso diagnóstico *in vitro*. Uso profissional. Uso em laboratórios de patologia e análises clínicas.

FUNDAMENTO:

O método cinético para a determinação da atividade da GOT (ASAT) de acordo com as recomendações da IFCC (Internacional Federation of Clinical Chemistry). Sem ativação com piridoxalfosfato.

A determinação da aspartato aminotransferase ocorre segundo as reações:



SIGNIFICADO CLÍNICO:

Esta enzima é encontrada no coração, fígado, músculo esquelético, rim, cérebro, pâncreas, baço e pulmão.

Pacientes com infarto agudo do miocárdio têm nível sérico de GOT elevado. Os valores são usualmente de 4 a 10 vezes maiores que o limite normal. Estes geralmente se desenvolvem dentro de 12 horas do evento do infarto e atingem o pico no segundo dia; os níveis retornam ao normal ao redor do quinto dia após o infarto.

A sensibilidade e especificidade da GOT no infarto agudo do miocárdio são baixas.

As discretas elevações do nível sérico de GOT têm sido observadas em alguns pacientes com infarto pulmonar.

Nos pacientes com insuficiência cardíaca congestiva, podem ocorrer graus de leve a moderado nas elevações da GOT. Em pacientes com pericardite também observam-se níveis levemente alterados. Leves alterações têm sido verificadas em pacientes após cateterismo cardíaco.

O GOT tem valor no reconhecimento da recorrência ou extensão de um infarto durante a convalescença.

Pacientes com doença ou dano produzido por inflamação ou destruição do músculo esquelético podem também ter níveis elevados de GOT. Pacientes com distrofia muscular progressiva, dermatomiosite e triquinose podem ter níveis elevados; enquanto pacientes com esclerose lateral amiotrófica, miastenia grave e secção nervosa, não os têm. Gangrena nas extremidades e trauma cirúrgico podem produzir elevações leves. Em acidentes cerebrovasculares podem ser encontradas elevações séricas.

Valores elevados também são encontrados nas hepatites (viral e tóxica), cirrose, colestase, metástase hepática, pancreatite, mononucleose, traumatismo extenso prolongado.

Oitenta por cento da GOT nos hepatócitos está na mitocôndria, enquanto que o GPT está localizada em outra parte do citoplasma. Por esta razão dano hepatocelular grave apresenta níveis mais elevados de GOT.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:

Conservar entre 2 a 8°C.

Reagentes:

BUF - Tampão: Tampão TRIS (pH 7,9) 100 mmol/L; L-aspartato 300 mmol/L; LDH $\geq 1,13$ kU/L; MDH $\geq 0,75$ kU/L e Azida sódica 0,095%.

SUB - Substrato: 2-oxoglutaratato 60 mmol/L; NADH 0,9 mmol/L e Azida sódica 0,095%.

PREPARO DO REAGENTE DE USO:

Adicionar 2 mL do SUBSTRATO (SUB) à 8 mL do TAMPÃO (BUF) e homogeneizar.

ESTABILIDADE:

Os reagentes são estáveis, mesmo após abertos, até a data de validade impressa no rótulo, quando armazenados a 2 - 8°C e protegidos da luz. Evitar contaminação dos reagentes. O Reagente de Uso é estável por 4 semanas a 2 - 8°C ou 5 dias a 15 - 25°C.

TRANSPORTE:

O transporte do kit deve ser feito pela rota mais direta evitando-se as chegadas nos finais de semana e feriados no local de destino. O kit não é afetado pelo transporte desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 07 dias e em uma temperatura de até 37°C.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES:

- Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação dos reagentes. A solução tampão (BUF) e o substrato (SUB) contém azida sódica como conservante. Não ingerir ou aspirar. Evitar contato com a pele e mucosa.
- Não ingerir ou aspirar os reagentes. Evitar contato com a pele e as mucosas.
- Manter no frasco original;
- Usar equipamentos de proteção necessários;
- Em caso de contato desta solução com a pele ou mucosa, lavar com bastante água e procurar um médico;
- Em caso de contato com os olhos, lavar com bastante água por vários minutos. Remover lentes de contatos, se presentes e for fácil a retirada. Continuar a lavar.
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.

• Todo o material contendo amostras de pacientes ou controles deve ser inativado por procedimentos validados (autoclavação ou tratamento químico).

• Os riscos residuais do kit, de acordo com critérios pré-determinados, são aceitáveis em comparação aos benefícios proporcionados pelo uso. A análise de risco foi realizada de acordo com a ISO 14971, relacionada à data final e levando em consideração a atual informação de registro.

• A limpeza da vidraria deve ser feita com detergente neutro. O enxágue deve ser exaustivo sendo o último enxágue com água destilada ou deionizada.

• A rigorosa observação da temperatura, do tempo de incubação, da limpeza da vidraria, da estabilidade dos reagentes e da pipetagem é de extrema importância para se obter bons resultados.

AMOSTRA BIOLÓGICA:

- SORO, PLASMA (Heparina, EDTA)
- Evitar amostra com hemólise
- Após 3 dias a amostra apresenta uma perda de 8% de atividade a 4°C e 10% a 20-25°C.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Fotômetro UV/VIS
- Pipetas
- Cronômetro
- Banho ou incubador

MÉTODO DE ANÁLISE:

A. Termostatizar os reagentes e cubetas a 37°C. A temperatura deve permanecer constante ($\pm 0,5^\circ\text{C}$) durante a execução do teste.

B. Leitura em espectrofotômetro:

Comprimento de onda: 334 nm, 340 nm e 365 nm.

Cubeta: 1 cm

Temperatura: 37°C.

Medida: Contra o ar (decréscimo de absorbância)

C. PROCEDIMENTO 1: Reagent Start

Pipetar nas cubetas	37°C
Amostras	100 μL
Tampão (BUF)	1,0 mL
Homogeneizar, incubar por 5 minutos a 37°C	
Substrato (SUB)	250 μL
Homogeneizar. Ler a absorbância inicial após 1 minuto. Ao mesmo tempo acionar o cronômetro. Ler a absorbância novamente após exatamente 2 minutos.	

PROCEDIMENTO 2: Sample Start

Pipetar nas cubetas	37°C
Amostra	100 μL
Reagente de Uso	1,0 mL
Homogeneizar. Ler a absorbância inicial após 1 minuto. Ao mesmo tempo acionar o cronômetro. Ler a absorbância novamente após exatamente 2 minutos.	

D. CÁLCULO:

Para um $\Delta A/\text{min}$ entre 0,06-0,08 para Hg 365 nm ou 0,12-0,16 para Hg 334 nm e 340 nm, utilizar para cálculo somente a leitura dos dois primeiros minutos (1 minuto de incubação + 2 minutos de medida). Neste caso o $\Delta A/\text{min}$ será a média de apenas duas diferenças.

U/L = $\Delta A/\text{min} \times$	Sample Start	Reagent Start
Comprimento de onda	37°C	37°C
334 nm	1780	2184
340 nm	1745	2143
365 nm	3235	3971

Fator de conversão das unidades tradicionais (U/L) para unidades internacionais (kat/L):

$$1 \text{ U/L} = 16,67 \times 10^{-3} \mu\text{kat/L}$$

$$1 \mu\text{kat/L} = 60 \text{ U/L}$$

Exemplo de cálculo:

- Calcular a média das diferenças das absorbâncias por minuto ($\Delta A/\text{min}$):

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

- Para calcular a atividade de GOT (U/L) aplicar ao $\Delta A/\text{min}$ os seguintes fatores:

Exemplo:

1) Temperatura a 37°C e $\Delta A/\text{min}$ (340 nm):

$$A0 = 1,270$$

$$A1 = 1,231$$

$$A2 = 1,193$$

$$A3 = 1,156$$

$$\Delta A/\text{min} = (1,231 - 1,270) + (1,193 - 1,231) + (1,156 - 1,193) / 3$$

$$\Delta A/\text{min} = (-0,038)$$

$$\text{U/L} = -0,038 \times (-952) = 36 \text{ U/L}$$

AUTOMAÇÃO:

Adaptação especial para analisadores automáticos pode ser fornecida quando solicitada.

CONTROLE DE QUALIDADE:

Todo soro controle contendo valores determinados pelo método cinético-UV para o GOT pode ser empregado. Recomendamos o uso de nossos soros controle HUMATROL e SERODOS. O AUTOCAL é recomendado para a calibração de analisadores automáticos. Os valores GOT no AUTOCAL são rastreáveis ao método de referência IFCC a 37°C.

LINEARIDADE DA REAÇÃO:

Até 600 U/L em sistemas automatizados.

Em procedimentos manuais:

Se a mudança de absorbância por minuto ($\Delta A/\text{min}$) ou a atividade exceder a:

Comprimento de onda	$\Delta A/\text{min}$	37°C (U/L)
Hg 365	0,080	320
Hg 334/340	0,160	350

Diluir 0,1 mL de amostra com 0,9 mL de solução salina (0,9%) repetindo o teste usando esta diluição. Multiplicar o resultado por 10. Em soros com atividade muito alta, a absorbância inicial pode ser muito baixa devido ao grande consumo de NADH antes da primeira leitura. Neste caso deve-se repetir a amostra depois da diluição descrita acima.

INTERFERENTES:

Substâncias interferentes foram adicionadas a uma amostra conhecida. Nenhuma interferência foi detectada até as seguintes concentrações:

Ácido Ascórbico	até 20 mg/dL
Bilirrubina	até 40 mg/dL
Hemoglobina	até 50 mg/dL; forte interferência
Intralípedes	até 300 mg/dL
Piruvato	até 1 mmol/L

VALORES DE REFERÊNCIA:

Idade	Gênero	Unidade convencional	Unidade SI
Adultos	Masculino	< 35 U/L	< 0,58 $\mu\text{kat/L}$
Adultos	Feminino	< 31 U/L	< 0,52 $\mu\text{kat/L}$
0 - 1 ano		16 - 58 U/L	0,27 - 0,96 $\mu\text{kat/L}$
1 - 3 anos		16 - 60 U/L	0,27 - 1,0 $\mu\text{kat/L}$
4 - 6 anos		14 - 49 U/L	0,24 - 0,81 $\mu\text{kat/L}$
7 - 12 anos		16 - 42 U/L	0,27 - 0,70 $\mu\text{kat/L}$
13 - 17 anos		13 - 38 U/L	0,22 - 0,64 $\mu\text{kat/L}$

*com ativação de piridoxalfosfato.

REPETIBILIDADE:

Amostra	N	Média	DP	CV
Valor baixo	36	72,82	0,96	1,32
Valor médio	36	167,21	1,18	0,70
Valor alto	36	106,42	1,02	0,95

REPRODUTIBILIDADE:

Amostra	N	Média	DP	CV
Valor baixo	36	72,82	1,41	1,94
Valor médio	36	167,21	1,93	1,15
Valor alto	36	106,42	1,72	1,61

SENSIBILIDADE:

A partir da média do desvio-padrão do resultado encontrado da imprecisão dia-a-dia (reprodutibilidade), a sensibilidade pode ser calculada utilizando 3 desvios-padrões (DP): Sensibilidade ($3 \times \text{DP}$, $\text{DP}_{25^\circ\text{C}} = 1,410 \text{ U/L}$): $3 \times 1,410 = 4,230 \text{ U/L}$.

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:

O kit GOT cinético liquiUV foi comparado com outros métodos para dosagem do GOT comercialmente disponíveis. Soros controle assim como 76 amostras de pacientes foram usados na comparação. Foram avaliados os resultados obtidos pelos métodos utilizados e também através de uma equação de regressão não-paramétrica de acordo com Bablock & Passing. A equação da regressão linear obtida foi: $Y = 1,024 X + 1,365$, e o coeficiente de correlação igual a $r = 1,000$. Ambos os métodos mostraram uma boa concordância e um desvio não significativo foi observado em algumas amostras específicas.

APRESENTAÇÃO DO KIT:

Cat. Nº	Reagente	Volume
12301	BUF	1 x 80,0 mL
	SUB	1 x 20,0 mL
12031	BUF	4 x 200,0 mL
	SUB	4 x 50,0 mL
12301-IV1/2	BUF	2 x 40 mL
	SUB	2 x 10 mL
12301-IV3/4	BUF	2 x 40 mL
	SUB	2 x 10 mL

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:

Telefone: **31 3067-6400** e-mail: invitroms@invitro.com.br

No DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

BIBLIOGRAFIA:

1. Synopsis der Leberkrankheiten: H. Wallnofer, E. Shmidt, u. F. W. Schmidt, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974.
2. Thefeld, W. et al., Dtsch. med. Wschr. **99**, 343 (1974).
3. Clin. Chem. Acta 70-42 (1976).
4. Schumann, G. et al., Clin. Chem. Lab. Med. **40**, 734-738 (2002).
5. Schumann, G. et al., Clin. Chem. Acta. **327**, 69-79 (2003).
6. Fischbach, F., Zawta, B. Klin. Lab **38**, 555-561 (1992).
7. Thomas L., Labor und Diagnose, 8. ed., TH-Books, 78-98 (2012)
8. IFCC AST Reference procedure, CCLM, part 5, 2002; 40 (7): 725-733
9. Young D.S., Effects of Drugs on Cli Lab Tests, 5 ed, AACC Press (2000)
10. DGKL, Die Qualität diagnostischer Proben, 7. ed, Heidelberg (2012)

Fabricante: In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053.

Regularizado por: In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053. CNPJ: 42.837.716/0001-98.

Telefone: 31 3067-6400 e-mail: invitroms@invitro.com.br

Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela - CRF 4463

ANVISA: 10303460247 Classe de Risco: II

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO

Data limite de utilização



Limite de temperatura (conservar a)



Número do Catálogo



Consultar Instrução de Uso



Número do lote



Produto Diagnóstico In Vitro



Data de Fabricação