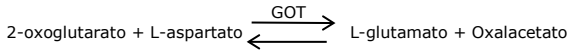
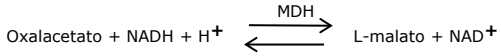
GOT (ASAT) - SNIBE

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.

DENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO
Conservar entre 2 a 8ºC.

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

SUB - Substrato: 2-oxoglutarato 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 - 8ºC e protegidos da luz. Evitar contaminação dos reagentes. O Reagente de Uso é estável por 4 semanas a 2 - 8ºC ou 5 dias a 15 - 25ºC.

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 7 dias e em uma temperatura de até 37ºC.

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.

AMOSTRAS BIOLÓGICAS
Tipo de amostra: SORO, PLASMA (Heparina, EDTA). Evitar amostra com hemólise

Estabilidade das amostras: Após 3 dias a amostra apresenta uma perda de 8% de atividade a 4ºC e 10% a 20-25ºC.

• O transporte da amostra biológica, quando necessário, deve ser feito pela rota mais direta e evitando sua chegada nos finais de semana e feriados no local de destino. A amostra biológica deve ser acondicionada em recipiente hermeticamente fechado, em seguida embalada de forma a mantê-la em temperatura recomendada (2 a 8ºC) desde o remetente até a entrega ao destinatário. Esta amostra deve ser identificada com o símbolo de amostra biológica.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:
Equipamento de bioquímica automático, pipeta, ponteira e lixo para descarte. Os materiais não fornecidos podem ser adquiridos no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

MÉTODO DE ANÁLISE

Termostatizar os reagentes e cubetas a 37°C. A temperatura deve permanecer constante (± 0,5ºC) durante a execução do teste.

A. Leitura em espectrofotômetro:
Comprimento de onda: 334 nm, 340 nm e 365 nm.
Cubeta: 1 cm
Temperatura: 37ºC.
Medida: Contra o ar (decréscimo de absorbância)

B. Procedimento de teste:

PROCEDIMENTO 1: Reagent Start

Pipetar nas cubetas	37ºC
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	37ºC
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.	

CÁLCULOS
Para um Δ A/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 ΔA/min será a média de apenas duas diferenças.

U/L= Δ A/min x	Sample Start	Reagent Start
Comprimento de onda	37ºC	37ºC
334 nm	1780	2184
340 nm	1745	2143
365 nm	3235	3971

Fator de coversão das unidades tradicionais (U/L) para unidades internacionais (kat/L):
1 U/L = 16,67 x 10^{-3} µkat/L
1 µkat/L = 60 U/L

Exemplo de cálculo
• Calcular a média das diferenças das absorbâncias por minuto (Δ A/min):

(Δ A/min) = (A1-A0) + (A2-A1) + (A3-A2)/ 3

• Para calcular a atividade de GOT (U/L) aplicar ao Δ A/mim os seguintes fatores:

Exemplo:
1) Temperatura a 37ºC e Δ A/min (340 nm):
A0 = 1,270
A1 = 1,231
A2 = 1,193
A3 = 1,156

Δ A/min = (1,231 - 1,270) + (1,193 - 1,231) + (1,156 - 1,193) / 3
Δ A/min = (- 0,038)
U/L= - 0,038 x (-952) = 36 U/L

CALIBRAÇÃO
Para a calibração recomenda-se o uso do Multicalibrador de Bioquímica – Snibe de acordo com os procedimentos descritos em suas instruções de uso e tabelas com valores. Inserir no analisador o valor definido para este parâmetro. Recomendamos a verificação da validade da calibração antes de cada corrida. A recalibração deve ser realizada quinzenalmente ou:
- Sempre que os controles se encontrarem fora da faixa;
- Depois da troca de lote de reagente;
- De acordo com o requerido no controle de qualidade interno.

REV. 07/26

VALORES DE REFERÊNCIA

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

*com ativação de piridoxalfosfato.

CONTROLE DE QUALIDADE
Todo soro controle contendo valores determinados pelo método cinético-UV para o GOT pode ser empregado. Recomendamos a utilização de nossos soros controle da linha Multicontrole de Bioquímica - Snibe.

AUTOMAÇÃO
Adaptação especial para analisadores automáticos de bioquímica está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada para o Departamento de Serviços Associados.

RASTREABILIDADE
A atividade ASAT (Asparate Aminotranferase) foi verificada com um método de referência que é rastreável ao SRM 909 B. O GOT revelou uma boa recuperação dentro dos limites de reprodutibilidade do método, os resultados são comparáveis com os resultados do método de referência.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Exatidão
O kit GOT (ASAT) 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.

Precisão
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 X DP, $DP_{25ºC}$= 1,410 U/L): 3 x 1,410 = 4,230 U/L.

Linearidade
Até 600 U/L em sistemas automatizados.
Em procedimentos manuais, se a mudança de absorbância por minuto (Δ A/min) ou a atividade exceder a:

Comprimento de onda	Δ A/min	37ºC (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

APRESENTAÇÃO DO KIT

Cat. Nº	Reagente	Volume
816-2	BUF	2 x 60 mL
	SUB	2 x 15 mL

BIBLIOGRAFIA

1. Synopsis der Leberkrankheiten: H. Wallnofer, E. Shmidt, u. F. W. Schmidt, Georg Thieme Verlag, Stutgart 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

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS
Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:
Telefone: +55(31) 3067-6400 e-mail: invitroms@invitro.com.br
No DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

Fabricado e Regularizado por: In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053. CNPJ: 42.837.716/0001-98.
Telefone: +55(31) 3067-6400 e-mail: invitroms@invitro.com.br
Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF 4463

ANVISA: 10303460611 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