

GOT (ASAT) IFCC mod.

MÉTODO:

Cinético - UV.

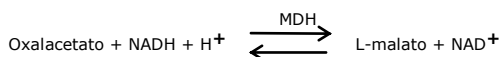
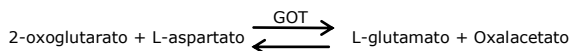
FINALIDADE:

Reagentes para a determinação da atividade do aspartato aminotransferase (GOT) em amostras biológicas, na faixa do UV. Somente para uso diagnóstico IN VITRO.

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 piridoxalofosfato.

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 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-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 - 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) contêm azida sódica como conservante. Não ingerir ou aspirar. Evitar contato com a pele e mucosa.

Como não se pode assegurar que amostras biológicas e soros controle não transmitem infecções, recomenda-se manuseá-las de acordo com as instruções de biossegurança.

Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.

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 na temperatura desejada. A temperatura deve permanecer constante ($\pm 0,5^\circ\text{C}$) durante a execução do teste.

B. Leitura em espectrofotômetro:

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

Cubeta: 1 cm

Temperatura: 25°C, 30°C, 37°C.

Medida: Contra o ar (decréscimo de absorbância)

C. PROCEDIMENTO 1: Reagent Start

| Pipetar nas cubetas | 25°C, 30°C | 37°C |
|---|-------------------|-------------------|
| Amostras | 200 μL | 100 μL |
| Tampão (BUF) | 1,0 mL | 1,0 mL |
| Homogeneizar, incubar por 5 minutos à temperatura desejada. | | |
| Substrato (SUB) | 250 μL | 250 μL |
| Homogeneizar. Ler absorbância inicial após 1 minuto. Ao mesmo tempo acionar o cronômetro. Ler a absorbância novamente após exatamente 1, 2 e 3 minutos. | | |

PROCEDIMENTO 2: Sample Start

| Pipetar nas cubetas | 25°C, 30°C | 37°C |
|---|-------------------|-------------------|
| Amostra | 200 μL | 100 μL |
| Reagente de Uso | 1,0 mL | 1,0 mL |
| Homogeneizar. Ler a absorbância inicial após 1 minuto. Ao mesmo tempo acionar o cronômetro. Ler a absorbância novamente após exatamente 1, 2 e 3 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 | 25°C, 30°C | 37°C | 25°C, 30°C | 37°C |
| Hg 334 nm | 971 | 1780 | 1173 | 2184 |
| 340 nm | 952 | 1745 | 1151 | 2143 |
| Hg 365 nm | 1765 | 3235 | 2132 | 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 25°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.

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:

REV. 01/12

InVitro



Data de Fabricação

| | | | |
|---------------------|----------------|---------------|------------|
| Comprimento de onda | Δ A/min | 25,30°C (U/L) | 37°C (U/L) |
| Hq 365 | 0,080 | 170 | 320 |
| Hq 334/340 | 0,160 | 190 | 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.

VALORES DE REFERÊNCIA:

| | | | | |
|-------------|------------|------------|------------|--------|
| TEMPERATURA | 25°C | 30°C | 37°C | IFCC* |
| HOMEM | até 18 U/L | até 25 U/L | até 37 U/L | 35 U/L |
| MULHER | até 15 U/L | até 21 U/L | até 31 U/L | 31 U/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 X DP, DP_{25°C} = 1,410 U/L): 3 x 1,410 = 4,230 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:

| Cat. Nº | Reagente | Volume | Nº Teste |
|---------|----------|--------------|----------|
| 12031 | BUF | 4 x 200,0 mL | 1000 |
| | SUB | 4 x 50,0 mL | |
| 12301 | BUF | 1 x 80,0 mL | 100 |
| | SUB | 1 x 20,0 mL | |

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:

Telefax (031) 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).

PRODUZIDO E DISTRIBUIDO POR In Vitro Diagnóstica Ltda
Rua Cromita, 278, Distrito Industrial – Itabira/MG. CEP: 35903-053
Telefone: 31-3067-6400 – Fax: 31-3067-6401
e-mail: invitroms@invitro.com.br
Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF 4463
Reg. M.S. 10303460247

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO

O conteúdo é suficiente para <n> testes



Data limite de utilização



Limite de temperatura (conservar a)



Número do Catálogo



Consultar Instrução de Uso



Número do lote



Produto Diagnóstico In Vitro

REV. 01/12

InVitro