

GOT (AST) UV

Liquid Stable

Finalidade

Método UV otimizado (IFCC) para a determinação de aspartato aminotransferase (GOT/AST) em soro ou plasma.

Significado clínico

A aspartato aminotransferase é uma enzima bilocular (citoplasmática e mitocondrial) amplamente difundida no organismo. É encontrada em maior concentração no fígado e coração. Qualquer alteração destes tecidos produz aumento nos níveis de AST circulante. No enfarto do miocárdio, observa-se um aumento moderado da enzima que começa às 6 ou 8 horas após produzida a lesão, alcança níveis máximos perto das 48 horas e retorna à normalidade após o 4º ou 6º dia. Em pacientes com doenças hepáticas são observadas maiores elevações de AST, principalmente nos casos de hepatites com necrose.

Fundamento do método

Baseado no seguinte esquema de reação:



Reagentes fornecidos

A. Reagente A: solução de Tampão Tris pH 7,8 contendo L-aspartato.

B. Reagente B: solução contendo 2-oxalglutarato, nicotinamida adenina dinucleótido reduzido (NADH), malato desidrogenase (MDH) e lactato desidrogenase (LDH).

Concentrações finais

Tris	100 mmol/L; pH 7,8
L-aspartato	200 mmol/L
NADH	0,18 mmol/L
MDH	≥ 400 U/L
LDH	≥ 600 U/L
2-oxalglutarato	12 mmol/L

Instruções de uso

Reagentes Fornecidos: prontos para uso. Podem ser utilizados separadamente ou como Reagente único misturando 4 partes de Reagente A + 1 parte de Reagente B (ex. 4 mL Reagente A + 1 mL Reagente B).

Precauções

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme a regulamentação local vigente.

Estabilidade e instruções de armazenamento

Reagentes Fornecidos: são estáveis sob refrigeração (2-8°C) até a data de vencimento indicada na embalagem.

Uma vez abertos não devem permanecer fora do refrigerador durante períodos prolongados. Evitar contaminações.

Reagente único (pre-misturado): estável sob refrigeração (2-8°C) por 2 meses a contar da data de sua preparação.

Indícios de instabilidade ou deterioração dos reagentes

O Reagente B pode desenvolver uma coloração parda rosada que não afeta seu funcionamento.

Quando o espectrofotômetro foi zerado com água destilada, leituras de absorbância do Reagente único inferiores a 0,900 D.O. ou superiores a 1,800 D.O. a 340 nm são indícios de deterioração.

Amostra

Soro ou plasma

a) Coleta: deve-se obter da forma habitual.

b) Aditivos: caso seja utilizado plasma como amostra, deve-se empregar heparina ou EDTA como anticoagulantes.

c) Estabilidade e instruções de armazenamento: a GOT em soro é estável até 3 dias sob refrigeração (2-8°C), sem necessidade de adicionar conservantes. Não congelar.

Interferências

As amostras de pacientes hemodialisados ou com hipovitaminose ou outras patologias associadas com deficiência de piridoxal fosfato produzem valores falsamente menores.

Não são observadas interferências por bilirrubina até 30 mg/dL, nem triglicerídeos até 500 mg/dL. A hemoglobina interfere significativamente aumentando os resultados pela presença de GOT nos eritrócitos.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

Material necessário (não fornecido)

- Espectrofotômetro.

- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.

- Banho-maria à temperatura indicada no procedimento a seguir.

- Cronômetro.

Condições de reação

- Comprimento de onda : 340 nm

- Temperatura de reação: 25, 30 ou 37°C. Vide "Valores de referência" correspondentes a cada temperatura.

- Tempo de reação: 4 minutos.

- Volume de amostra: 100 uL

Os volumes de Amostra e de Reagente, podem mudar proporcionalmente sem que variem os fatores de cálculo.

Procedimento

A) 30 ou 37°C

I- Técnica com reagente único

Em uma cuba mantida a 30-37°C, colocar:

Reagente único	1,0 mL
Pré-incubar uns minutos. Após acrescentar:	
Amostra	100 uL

Misturar imediatamente e disparar simultaneamente o cronômetro. Após 90 segundos, registrar a absorbância inicial (vide "Limitações do procedimento") e passados os minutos 1, 2 e 3 da primeira leitura. Determinar a diferença média da absorbância/min ($\Delta A/\text{min}$), subtraindo cada leitura da anterior e tirando a média dos valores. Utilizar esta média para os cálculos.

II- Técnica com reagentes separados

Em uma cuba mantida a 30-37°C, colocar:

Reagente A	0,80 mL
Amostra	100 uL
Pré-incubar uns minutos. Após acrescentar:	
Reagente B	0,20 mL

Misturar imediatamente e disparar simultaneamente o cronômetro. Após 90 segundos, registrar a absorbância inicial (vide "Limitações do procedimento") e passados os minutos 1, 2 e 3 da primeira leitura. Determinar a diferença média da absorbância/min ($\Delta A/\text{min}$), subtraindo cada leitura da anterior e tirando a média dos valores. Utilizar esta média para os cálculos.

B) 25°C

Utilizar 250 uL de Amostra seguindo o procedimento indicado em A).

Cálculo dos resultados

$\text{GOT (U/L)} = (\Delta A/\text{min} \times \text{fator})$

Em cada caso deve-se utilizar o fator de cálculo correspondente conforme a temperatura de reação selecionada:

fator(30-37°C) = 1746

fator(25°C) = 794

Exemplo:

(Os dados apresentados a seguir são ilustrativos)

	Amostra	Diferença	Média
Absorbância A1	1,456		
Absorbância A2	1,401	0,055	
Absorbância A3	1,344	0,057	
Absorbância A4	1,288	0,056	0,056

Utilizando Fator teórico (37°C):

$\text{GOT (U/L)} = 0,056 \times 1746 = 97,8 \text{ U/L}$

Se é utilizado Laborcal como calibrador:

Concentração de GOT no calibrador: 104 U/L (37°C)

	Calibrador	Diferença	Média
Absorbância A1	1,512		
Absorbância A2	1,451	0,061	
Absorbância A3	1,390	0,061	
Absorbância A4	1,329	0,059	0,060

Obtenção do fator de calibração:

$$\text{Fator} = \frac{[\text{GOT}_{\text{calibrador}}]}{\Delta A/\text{min}_{\text{calibrador}}} = \frac{104 \text{ U/L}}{0,060} = 1733$$

$$\text{GOT (U/L)} = \Delta A/\text{min}_{\text{Amostra}} \times \text{Fator} = 0,056 \times 1733 = 97 \text{ U/L}$$

Valores de referência			
Temperatura	25°C*	30°C*	37°C
Homens	até 18 U/L	até 25 U/L	até 38 U/L
Mulheres	até 15 U/L	até 21 U/L	até 32 U/L

* Calculados

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

Conversão de unidades ao sistema SI

GOT (U/L) x 0,017 = GOT (ukat/L)

Método de controle de qualidade

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Laborcontrol 1** e **Laborcontrol 2** da Laborlab) com atividades conhecidas de aspartato aminotransferase, com cada determinação.

Limitações do procedimento

Vide "Interferências".

Absorbância inicial baixa: uma vez acrescentado o soro, a primeira leitura (tempo 0) é inferior a 0,900 D.O., encontrando-se o Reagente B em boas condições, indica uma amostra com muita atividade de GOT (que consome o NADH muito antes de esta leitura) ou com uma concentração de cetoácidos endógenos particularmente elevada. Neste caso, repetir a determinação com amostra diluída com solução fisiológica e multiplicando o resultado conforme a diluição já realizada.

Desempenho

a) **Reprodutibilidade:** processando simultaneamente duplicatas da mesma amostra, obteve-se o seguinte:

Nível	D.P.	C.V.
58,45 U/L	± 1,67 U/L	2,86 %
148,30 U/L	± 2,85 U/L	1,92 %

b) **Sensibilidade:** a mudança mínima de atividade detectável de GOT diferente de zero é 6 U/L.
c) **Faixa dinâmica:** o intervalo útil de leitura prolonga-se até 0,345 ΔA/min (a 340 nm). Se a ΔA/min é superior a 0,345, deve-se repetir a determinação com amostra diluída (1:5 ou 1:10) com solução fisiológica, corrigindo os resultados conforme o fator de diluição empregado.

Parâmetros para analisadores automáticos

Para a programação consultar o manual de uso do analisador a ser utilizado.

Apresentação

2 x 48 mL **Reagente A**
2 x 12 mL **Reagente B**
(Cód. 1770140)

4 x 50mL **Reagente A**
4 x 12,5 mL **Reagente B**
(Cód. 1779619)

Referências

- IFCC - Clin. Chim. Acta 70/2:F19 (1976).
- SSCC - Scand. J. Clin. Lab. Invest. 33:291 (1974).
- DGKC - Z. Klin. Chem. 10:281 (1972).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- Bergmeyer H.V., Horder, M., Rej R. - J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 24:497, 1986.
- Dufour, D.R.; Lott, J.A.; Nolte, F.S.; Gretch, D.R.; Koff, R.S. and Seeff, L.B. - Clin. Chem. 46/12:2027, 2000.
- "Tietz textbook of Clinical Chemistry" - Burtis and Ashwood Editors, 3rd Ed. - Saunders Co., 1999.

Termo de garantia

Este Kit como um todo tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Departamento Técnico da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda. que não houve falhas técnicas na execução e manuseio deste kit, assim como em sua conservação.

SÍMBOLOS

Este produto preenche os requisitos da Diretiva Européia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"

EC

REP

Representante autorizado na Comunidade Européia

IVD

Uso médico-diagnóstico "in vitro"

Conteúdo suficiente para <n> testes

Data de validade

Limite de temperatura (conservar a)

Não congelar

Risco biológico

Volume após da reconstituição

Cont.

Conteúdo

LOT

Número de lote

Elaborado por:

Nocivo

Corrosivo / Caústico

Irritante

Consultar as instruções de uso

Calibr.

Calibrador

CONTROL

Controle

CONTROL +

Controle Positivo

CONTROL -

Controle Negativo

REF

Número de catálogo

GOT (AST) UV

Liquid Stable

Fin y uso

Método UV optimizado (IFCC) para la determinación de aspartato aminotransferasa (GOT/AST) en suero o plasma

Significación clínica

La aspartato aminotransferasa es una enzima bilocular (citoplasmática y mitocondrial) ampliamente difundida. Se encuentra en mayor concentración en hígado y corazón.

Cualquier alteración de estos tejidos produce un aumento en los niveles de AST circulante.

En el infarto agudo de miocardio, se observa un aumento moderado de la enzima a las 6 u 8 horas de ocurrido el episodio, alcanza niveles máximos alrededor de las 48 horas y retorna a la normalidad entre el 4º y el 6º día.

En pacientes con afecciones hepáticas se observan las mayores elevaciones de AST, sobre todo en los casos de hepatitis con necrosis.

Fundamentos del método

Basado en el siguiente esquema reaccionante:



Reactivos provistos

A. Reactivo A: solución de buffer TRIS pH 7,8 conteniendo L-aspartato.

B. Reactivo B: solución conteniendo 2-oxoglutarato, nicotinamida adenina dinucleótido reducido (NADH), malato deshidrogenasa (MDH) y lactato deshidrogenasa (LDH).

Concentraciones finales

TRIS	100 mmol/l; pH 7,8
L-aspartato	200 mmol/l
NADH	0,18 mmol/l
MDH	≥ 400 U/l
LDH	≥ 600 U/l
2-oxoglutarato	12 mmol/l

Instrucciones para su uso

Reactivos Provistos: listos para usar. Estos pueden usarse separados o como **Reactivo único**, mezclando 4 partes de Reactivo A con 1 parte de Reactivo B (ej.: 4 ml Reactivo A + 1 ml Reactivo B).

Precauciones

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

Estabilidad e instrucciones de almacenamiento

Reactivos Provistos: son estables en refrigerador (2-8°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. Una vez abiertos, no deben permanecer fuera del refrigerador por períodos prolongados. Evitar contaminaciones.

Reactivo único (premezclado): estable 2 meses en refrigerador (2-8°C) a partir de la fecha de su preparación.

Indicios de inestabilidad o deterioro de los reactivos

El Reactivo B puede presentar una coloración pardo rosada que no afecta su funcionamiento.

Cuando el espectrofotómetro ha sido llevado a cero con agua destilada, lecturas de absorbancia del Reactivo único inferiores a 0,900 D.O. o superiores a 1,800 D.O. (a 340 nm) son indicio de deterioro del mismo.

Muestra

Suero o plasma

a) Recolección: se debe obtener de la manera usual.

b) Aditivos: en caso de que la muestra a utilizar sea plasma, se puede usar heparina o EDTA como anticoagulantes.

c) Sustancias interferentes conocidas:

- Las muestras provenientes de pacientes hemodializados o con hipovitaminosis o patologías asociadas con deficiencia de piridoxal fosfato producen valores falsamente disminuidos.

- No se observan interferencias por bilirrubina hasta 30 mg/dl, ni triglicéridos hasta 500 mg/dl. La hemoglobina interfiere significativamente aumentando los resultados debido a la presencia de GOT en los eritrocitos.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la GOT en suero es estable hasta 3 días en refrigerador, sin agregado de conservantes. No congelar.

Material requerido (no provisto)

- Espectrofotómetro.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Baño de agua a la temperatura indicada en el procedimiento.
- Cronómetro.

Condiciones de reacción

- Longitud de onda: 340 nm
 - Temperatura de reacción: 25, 30 ó 37°C. Ver los VALORES DE REFERENCIA correspondientes a cada temperatura.
 - Tiempo de reacción: 4 minutos
 - Volumen de muestra: 100 ul
- Los volúmenes de Muestra y de Reactivo pueden variarse proporcionalmente, sin que varíen los factores de cálculo.

Procedimiento

A) 30 ó 37°C

I- TECNICA CON REACTIVO UNICO

En una cubeta mantenida a 30-37°C, colocar:

Reactivo único	1,0 ml
----------------	--------

Preincubar unos minutos. Luego agregar:

Muestra	100 ul
---------	--------

Mezclar inmediatamente y disparar simultáneamente el cronómetro. Esperar 90 segundos y leer la absorbancia inicial (ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO) y luego a los 1, 2 y 3 minutos de la primera lectura. Determinar la diferencia promedio de absorbancia/min ($\Delta A/\text{min}$), restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.

II- TECNICA CON REATIVOS SEPARADOS

En una cubeta mantenida a 30-37°C, colocar:

Reactivo A	0,80 ml
Muestra	100 ul

Preincubar unos minutos. Luego agregar:

Reactivo B	0,20 ml
------------	---------

Mezclar inmediatamente y disparar simultáneamente el cronómetro. Esperar 90 segundos y leer la absorbancia inicial (ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO) y luego a los 1, 2 y 3 minutos de la primera lectura. Determinar la diferencia promedio de absorbancia/min ($\Delta A/\text{min}$), restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.

B) 25°C

Emplear 250 ul de Muestra siguiendo el procedimiento indicado en A).

Cálculo de los resultados

$\text{GOT (U/l)} = \Delta A/\text{min} \times \text{factor}$

En cada caso deberá emplearse el factor de cálculo correspondiente de acuerdo a la temperatura de reacción seleccionada:

$\text{factor}_{(30-37^\circ\text{C})} = 1.746$

$\text{factor}_{(25^\circ\text{C})} = 794$

Ejemplo:

(Los datos presentados a continuación son ilustrativos)

	Amostra	Diferença	Promédio
Absorbância A1	1,456		
Absorbância A2	1,401	0,055	
Absorbância A3	1,344	0,057	
Absorbância A4	1,288	0,056	0,056

Utilizando Factor teórico (37°C):
 GOT (U/l) = 0,056 x 1746 = 97,8 U/l
 Se se utiliza Laborcal como calibrador:

Concentración de GOT en el calibrador: 104 U/l (37°C)

	Calibrador	Diferencia	Promedio
Absorbancia A1	1,512		
Absorbancia A2	1,451	0,061	
Absorbancia A3	1,390	0,061	
Absorbancia A4	1,329	0,059	0,060

Obtención del factor de calibración:

$$\text{Factor} = \frac{[\text{GOT}_{\text{calibrador}}]}{\Delta A/\text{min}_{\text{calibrador}}} = \frac{104 \text{ U/l}}{0,060} = 1733$$

$$\text{GOT (U/l)} = \Delta A/\text{min}_{\text{Muestra}} \times \text{Factor} = 0,056 \times 1733 = 97 \text{ U/l}$$

Valores de referencia

Temperatura	25°C*	30°C*	37°C
Hombres	hasta 18 U/l	hasta 25 U/l	hasta 38 U/l
Mujeres	hasta 15 U/l	hasta 21 U/l	hasta 32 U/l

* Calculados

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

Conversión de unidades al sistema SI

$$\text{GOT (U/l)} \times 0,017 = \text{GOT (ukat/l)}$$

Método de control de calidad

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Laborcontrol 1** y **Laborcontrol 2** de Laborlab) con actividades conocidas de GOT, con cada determinación.

Limitaciones del procedimiento

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

Absorbancia inicial baja: cuando una vez agregado el suero la primera lectura (tiempo 0) es inferior a 0,900 D.O., estando el Reactivo B en condiciones, indica una muestra con muy alta actividad de GOT (que consume el NADH aún antes de esta lectura) o con una concentración de cetóácidos endógenos particularmente elevada. En este caso, repetir la determinación con muestra diluida con solución fisiológica y multiplicar el resultado por la dilución efectuada.

Performance

a) Reproducibilidad: procesando simultáneamente replicados de una misma muestra, se obtiene:

Nivel	D.S.	C.V.
58,45 U/l	± 1,67 U/l	2,86 %
148,30 U/l	± 2,85 U/l	1,92 %

b) Sensibilidad: el mínimo cambio de actividad detectable de GOT que puede distinguirse de cero es de 6 U/l.

c) Rango dinámico: el rango útil de lectura se extiende hasta 0,345 ΔA/min (a 340 nm). Si la ΔA/min es superior a 0,345, se debe repetir la determinación con muestra diluida (1:5 ó 1:10) con solución fisiológica, corrigiendo los resultados según el factor de dilución empleado.

Parámetros para analizadores automáticos

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso.

Presentación

2 x 48 mL **Reactivo A**
 2 x 12 mL **Reactivo B**
 (Cód. 1770140)

4 x 50mL **Reactivo A**
 4 x 12,5 mL **Reactivo B**
 (Cód. 1779619)

Bibliografía

- IFCC - Clin. Chim. Acta 70/2:F19 (1976).
- SSCC - Scand. J. Clin. Lab. Invest. 33:291 (1974).
- DGKC - Z. Klin. Chem. 10:281 (1972).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- Bergmeyer H.V., Horder, M., Rej R. - J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 24:497, 1986.
- Dufour, D.R.; Lott, J.A.; Nolte, F.S.; Gretch, D.R.; Koff, R.S. and Seeff, L.B. - Clin. Chem. 46/12:2027, 2000.
- "Tietz textbook of Clinical Chemistry" - Burtis and Ashwood Editors, 3rd Ed. - Saunders Co., 1999.

SIMBOLOS



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Cáustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control



Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo



Produtos para Laboratórios Ltda.
 Estrada do Capão Bonito, 489
 Guarulhos - SP- Brasil - CEP: 07263-010
 CNPJ: 72.807.043/0001-94
 Atendimento ao cliente:
 +55 (11) 2480 0529/+55 (11) 2499 1277
 sac@laborlab.com.br
 www.laborlab.com.br