



# GOT(AST) UNIII

AA

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. Encontra-se a maior concentração no fígado e coração. Qualquer alteração de estes tecidos produzem aumento nos níveis de AST circulante.

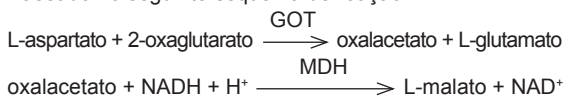
No enfarte do miocárdio, observa-se um aumento moderado da enzima que começa às 6 ou 8 horas após de produzida a lesão, alcança a níveis máximos perto das 48 horas e retorna à normalidade após o 4º ou 6º dia.

Em pacientes com afecções hepáticas observam-se as maiores elevações de AST, principalmente nos casos de hepatites com necrose.

A determinação de AST obtém importância diagnóstica quando seus valores são comparados com os valores de outras enzimas de semelhantes de origem tissular, o que permite completar o perfil enzimático de órgãos tais como coração e fígado.

## FUNDAMENTO DO MÉTODO

Baseado no seguinte esquema de reação:



## REAGENTES FORNECIDOS

**A. Reagente A:** frascos contendo 2-oxalglutarato, nicotina-mida-adenina dinucleótido reduzido (NADH), malato desidrogenase (MDH) e lactato desidrogenase (LDH).

**B. Reagente B:** solução de Tampão TRIS pH 7,8 (a 30°C) contendo L-aspartato.

**Concentrações finais** (segundo IFCC e SCCC)

|                      |                            |
|----------------------|----------------------------|
| TRIS .....           | 80 mmol/l; pH 7,8 (a 30°C) |
| L-aspartato .....    | 240 mmol/l                 |
| NADH .....           | 0,18 mmol/l                |
| MDH .....            | ≥ 420 U/l                  |
| LDH .....            | ≥ 600 U/l                  |
| 2-oxalglutarato..... | 12 mmol/l                  |

## INSTRUÇÕES DE USO

**Reagente B:** pronto para uso.

**Reagente A:** preparação: acrescentar 20 ml de Reagente B num frasco de Reagente A. Tampar, agitar até dissolução completa e datar.

## PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

O Reagente B contém azida.

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

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

## ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

**Reagentes Fornecidos:** são estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem.

**Reagente A reconstituído:** sob refrigeração (2-10°C) é estável por 30 dias ou por 3 dias sob temperatura ambiente a partir do momento da reconstituição.

## INDÍCIOS DE INSTABILIDADE O DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES

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

## AMOSTRA

Soro ou plasma

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

**b) Aditivos:** caso a amostra a utilizar seja plasma, deve-se empregar heparina como anticoagulante.

**c) Substâncias interferentes conhecidas:**

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

- Não se observam interferências por bilirrubina até 60 mg/l, triglicérides até 5,5 g/l, nem hemoglobina até 0,14 g/dl. Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

**d) Estabilidade e instruções de armazenamento:** a GOT em soro é estável até 3 dias sob refrigeração (2-10°C), sem necessidade de adicionar conservantes. Não congelar.

## MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro.

- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.

- Banho-maria à temperatura indicada no procedimento.

- Cronômetro.

## CONDIÇÕES DE REAÇÃO

(Diminuição da absorbância)

- Comprimento de onda : 340 nm ( Hg 334 ou 366).

- Temperatura de reação: 25, 30 ou 37°C. Vide os VALORES

DE REFERÊNCIA correspondentes a cada temperatura.

- Tempo de reação: 4 minutos.

Os volumes de Amostra e de Reagente A reconstituído, podem ser reduzidos proporcionalmente sem que variem os fatores de cálculo correspondentes.

## PROCEDIMENTO

### A) 30 ou 37°C

#### I- MACROTÉCNICA

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

|                          |      |
|--------------------------|------|
| Reagente A reconstituído | 2 ml |
|--------------------------|------|

|         |        |
|---------|--------|
| Amostra | 200 ul |
|---------|--------|

Misturar imediatamente e disparar simultaneamente o cronômetro. Após de 1 minuto, registrar a absorbância inicial (vide LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO) e após 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- MICROTÉCNICA

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

|                          |      |
|--------------------------|------|
| Reagente A reconstituído | 1 ml |
|--------------------------|------|

|         |        |
|---------|--------|
| Amostra | 100 ul |
|---------|--------|

Misturar imediatamente. Continuar do mesmo modo que o descrito no procedimento (A-I).

### B) 25°C

#### MACROTÉCNICA

Utilizar 500 ul de Amostra. Após de acrescentar a Amostra, misturar imediatamente e disparar simultaneamente o cronômetro. Após de 3 minutos, registrar a absorbância inicial (vide LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO). Continuar do mesmo modo que o descrito no procedimento A-I.

## CÁLCULO DOS RESULTADOS

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

Em cada caso dever-se-á utilizar o fator de cálculo correspondente conforme com a temperatura de reação selecionada (30-37°C ou 25°C), como indicado na seguinte tabela:

| Temperat. | 30-37°C | 25°C  |
|-----------|---------|-------|
| 340 nm    | 1.740   | 791   |
| 334 nm    | 1.780   | 809   |
| 366 nm    | 3.207   | 1.453 |

## MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (Standatrol S-E 2 níveis) com atividades conhecidas de aspartato aminotransferase, com cada determinação.

## 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

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

## LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA.

- Absorbância inicial baixa: uma vez acrescentado o soro, a primeira leitura (tempo 0) é inferior a 0,800 D.O., encontrando-se o Reagente A (substrato) 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 pelo fator de diluição já realizada.

- A umidade é causa de deterioração do Reagente A.

## DESEMPENHO

a) **Reprodutibilidade:** processando segundo o documento EP5A do NCCLS (National Committee on Clinical Laboratory Standards), obteve-se o seguinte:

### Precisão intra-ensaio (n = 20)

|         |           |       |
|---------|-----------|-------|
| Nível   | D.P.      | C.V.  |
| 37 U/l  | ± 1,6 U/l | 4,4 % |
| 180 U/l | ± 2,4 U/l | 1,3 % |

### Precisão total (n = 20)

|         |           |       |
|---------|-----------|-------|
| Nível   | D.P.      | C.V.  |
| 37 U/l  | ± 1,8 U/l | 4,9 % |
| 180 U/l | ± 2,8 U/l | 1,6 % |

b) **Sensibilidade:** depende do fotômetro empregado e da comprimento de onda. Em espectrofotômetros com cubetas de faces paralelas de 1 cm de espessura, para um  $\Delta A/\text{min}$  de 0,001 a mudança mínima de atividade detectável será de 1,8 U/l (a 340 nm e 30 ou 37°C).

c) **Faixa dinâmica:** o intervalo útil de leitura prolonga-se até 0,200  $\Delta A/\text{min}$  (a 340 nm). Se a  $\Delta A/\text{min}$  é superior a 0,200 (a 340-334 nm) ou 0,100 (a 366 nm) deve-se repetir a determinação com amostra diluída (1:5 ou 1:10) com solução fisiológica, corrigindo os resultados.

## PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

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

## APRESENTAÇÃO

- 10 x 20 ml (200 ml Reagente B) (Cód. 1751302).

## 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, 4<sup>th</sup> ed., 2001.
- "Tietz textbook of Clinical Chemistry" - Burtis and Ashwood Editors, 3<sup>rd</sup>. Ed. - Saunders Co., 1999.
- Wallnöfer, H.; Schmidt, E.; Schmidt, FW - Synopsis der leberkrankheiten. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1974.
- Thefeld, W. et al. - Dtsch. Med. Wschr. 99:343 (1974).
- 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).
- NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", EP5-A (1999).

## SÍMBOLOS

Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab.



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



Representante autorizado na Comunidade Europeia



Uso médico-diagnóstico "in vitro"



Conteúdo suficiente para <n> testes



Data de validade



Limite de temperatura (conservar a)



Não congelar



Risco biológico



Volume após a reconstituição



Conteúdo



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caústico



Irritante



Consultar as instruções de uso



Calibrador



Controle



Controle Positivo



Controle Negativo



Número de catálogo



**Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina