

Bioclin

TRANSAMINASE TGO K034

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Método para a determinação da transaminase oxalacética (AST ou TGO). Teste colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Reitmann e Frankel

A transaminase catalisa a transferência do grupamento amino de um alfa-aminoácido para um alfa-cetoácido.

L-aspartato + Alfa-cetoglutarato \longleftrightarrow L-glutamato + oxalacetato.
O oxalacetato reage com a dinitrofenilhidrazina. A intensidade de coloração da hidrazona formada, em meio alcalino, é diretamente proporcional à quantidade de oxalacetato, em determinado tempo, que, por sua vez, é função da atividade enzimática.

REAGENTES

Número 1 - Substrato de TGO ou AST - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: tampão fosfato 0,1 mol/L pH 7,4, ácido L aspartico 0,153 mol/L, ácido alfa cetoglutarico 2 mmol/L e azida sódica 7,7 mmol/L.

Número 2 - Reagente de Cor - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: 2,4-dinitrofenilhidrazina 1,0 mmol/L e ácido clorídrico 1,0 mol/L.

Número 3 - Hidróxido de Sódio Concentrado - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: hidróxido de sódio 5 mol/L.

Número 4 - Padrão - Conservar entre 2 e 8 °C. Homogeneizar bem antes de usar. Contém: piruvato de sódio 2,53 mmol/L, tampão fosfato 0,1 mol/L pH 7,4 e azida sódica 7,7 mmol/L.

APRESENTAÇÃO

REAGENTES	VOLUME
Embalagem	TGO
Reagente Nº 1	50 mL
Reagente Nº 2	50 mL
Reagente Nº 3	40 mL
Reagente Nº 4	4 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Espectrofotômetro ou colorímetro, banho-maria (37 °C), relógio ou cronômetro, pipetas, tubos de ensaio, papel monolog ou milimetrado. Encontram-se no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8 °C. O transporte, em temperaturas entre 15 e 30 °C, não deverá exceder a 72 (setenta e duas) horas. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade.

CUIDADOS ESPECIAIS

- 1 - Somente para uso diagnóstico *in vitro*;
- 2 - Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos;
- 3 - A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes;
- 4 - Apesar dos substratos conterem um preservativo devem-se evitar contaminações bacterianas;
- 5 - Devido a maior concentração de TGO nas hemácias, a hemólise prejudica o teste, fornecendo resultados falsamente elevados;
- 6 - O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se os critérios de biossegurança, de acordo com a legislação vigente;
- 7 - Manusear com cuidado os reagentes Nº 1 e Nº 4, que contêm azida sódica, pois são irritantes para pele e mucosas;
- 8 - O Reagente Nº 3 é cáustico; evitar contato com a pele. O Reagente Nº 2 contém ácido e deve ser manipulado com cuidado, pois é irritante para pele e mucosas, podendo causar queimadura leve.

AMOSTRAS

Soro ou plasma (colhido com heparina ou EDTA). O analito é estável 4 dias entre 2 e 8 °C e 2 semanas à 10 °C negativos.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

PREPARO DO HIDRÓXIDO DE SÓDIO DE USO (0,4 N):

Transferir quantitativamente o conteúdo do frasco Nº 3 (40 mL) para um balão volumétrico de 500 mL e completar até a marca com água destilada ou deionizada livre de CO₂. Homogeneizar bem e armazenar em frasco plástico. Estável em temperaturas entre 15 e 30 °C.

Curva de Calibração

Não usar o método do fator para as dosagens de TGO, pois as absorvâncias não são diretamente proporcionais a atividade enzimática. Preparar com bastante rigor a curva de calibração descrita abaixo:

Tubo	Padrão	Substrato de TGO	Água dest.	TGO U/mL
1	---	1,0 mL	200 µL	0
2	100 µL	0,9 mL	200 µL	24
3	200 µL	0,8 mL	200 µL	61
4	300 µL	0,7 mL	200 µL	114
5	400 µL	0,6 mL	200 µL	190

Adicionar a cada tubo 1,0 mL de Reagente de Cor Nº 2, homogeneizar e deixar em repouso por 20 minutos à temperatura ambiente. Opcionalmente, este tempo pode ser reduzido para 5 minutos, incubando em banho-maria a 56 °C. Adicionar 10,0 mL de hidróxido de sódio de uso (0,4 N). Homogeneizar e deixar em repouso por 5 minutos. A cor permanece estável por 60 minutos. Determinar as absorvâncias ou transmitâncias em 505 nm (490-540), acertando o zero com água destilada ou deionizada. Traçar a curva de calibração, colocando na ordenada os valores de absorvância (papel milimetrado) ou transmitância (papel monolog), e na abscissa, os valores de unidades/mL.

TÉCNICA

Marcar os tubos de ensaio para dosagem da TGO e proceder como a seguir:

	TGO
Substrato TGO Nº 1	250 µL
Incubar a 37 °C por 3 minutos	
Amostra	100 µL
Homogeneizar e incubar a 37 °C por 30 minutos	
Reagente Nº 2	250 µL
Homogeneizar e deixar em repouso por 20 minutos a temperatura ambiente ou por 5 minutos a 56 °C.	
Hidróxido de sódio de uso	2,5 mL

Homogeneizar por inversão e deixar em repouso por 5 minutos, à temperatura ambiente. Transferir para as cubetas e medir a absorvância ou transmitância em 505 nm (490-540), acertando o zero com água destilada ou deionizada. A cor é estável por 30 minutos. Calcular os valores de TGO através da curva de calibração. Se o resultado obtido for acima de 180 unidades, diluir a amostra com NaCl 0,85% e proceder nova determinação. O valor obtido deve ser multiplicado pelo fator de diluição.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

Testar periodicamente a calibração para detectar alguma alteração na resposta do espectrofotômetro ou do colorímetro

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens. Deve ser de 5% o erro máximo permitido em relação aos valores pré-estabelecidos para os controles.

VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores de referência, em U/mL, para o presente método foram obtidos através da determinação de TGO em populações sadias do sexo masculino e feminino.

TGO 4 a 36 Unidades/mL

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

Para converter os valores de Unidades/mL em Unidades Internacionais (UI), multiplicar por 0,482.

DESEMPENHO DO PRODUTO

CONTROLE DE QUALIDADE

Exatidão

RECUPERAÇÃO

A análise de recuperação Kit Transaminase Colorimétrica TGO Bioclin foi feita com 05 determinações de amostras. As exatidões foram calculadas e se encontraram em boa concordância com os valores de referência, obtendo uma recuperação entre 95 e 103%.

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS E ESPECIFICIDADE METODOLÓGICA

O Kit Transaminase Colorimétrica TGO Bioclin foi comparado com outro método para dosagem de TGO comercialmente disponível. Foram realizadas 07 análises e os resultados foram avaliados. A equação linear obtida foi $Y = 0,983549X + 2,086110$ e o coeficiente de correlação = 0,985110. Com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

Precisão

REPETIBILIDADE

A repetibilidade refere-se a 20 determinações sucessivas de TGO, utilizando-se 3 amostras com concentrações diferentes. Foram encontrados os seguintes resultados:

NÚMERO	AMOSTRA 1 (U/mL)	AMOSTRA 2 (U/mL)	AMOSTRA 3 (U/mL)
MÉDIA	93,4	23,85	27,9
DP	1,60	1,14	1,37
CV	1,72	4,77	4,92

REPRODUTIBILIDADE

A reprodutibilidade refere-se a 20 determinações de TGO, em 3 dias diferentes, com 3 amostras de concentrações diferentes. Foram encontrados os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração (U/mL)	92,90	23,88	27,05
Desvio padrão (U/mL)	0,53	0,06	1,14
Coefficiente de Variação (%)	0,57	0,24	4,23

Sensibilidade

A sensibilidade do Kit Transaminase Colorimétrica TGO Bioclin foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra isenta da presença de TGO. A média encontrada foi de 6,3 U/mL, com desvio padrão de 1,13 U/mL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde a 3 vezes o desvio padrão, sendo igual a 3,39 U/mL.

ESPECIFICIDADE DIAGNÓSTICA

O aumento da atividade da enzima aspartato amino transferase - TGO/AST, de localização citomitocondrial, reflete alterações de vários tecidos. Esta enzima encontra-se em alta concentração no coração, fígado, músculo esquelético, rins e pâncreas; sua atividade no plasma aumenta 6 a 8 horas, após infarto do miocárdio, alcançando um pico em 24 a 48 horas, após o acometimento. Consideráveis aumentos ocorrem em hepatites virais, tóxicas, doenças necróticas hepáticas (3 a 50 vezes o Valor de Referência - VR), mononucleoses (20 vezes o VR), colestase intra-hepática (20 vezes o VR) e distrofias musculares (8 vezes o VR).

Nas DH crônicas, associadas à necrose celular, devido ao aumento da liberação de AST (mitocondrial), pode ocorrer inversão da relação ALT/AST. Ocorre ainda aumento de seus níveis na mononucleose infecciosa e nas colestases intra e extra hepáticas.

NÚMERO DE TESTES

200 Testes/100 µL de amostra / 3 mL de Reagente

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - CABAL, P., LEEPER, R., WROBLEWISKI, F.: Am. J. Clin. Path. 26: 1101, 1956;
- 2 - LA DUE, J. S., WROBLEWISKI, F., KARMEN, A.: Science 120:497, 01954;
- 3 - MOHUN, A. F., COOK, I. J. Y.: Am. J. Clin. Path. 27:235, 1957;
- 4 - WROBLEWISKI, F., CABAUD, P., Am. J. Clin. Path. 27:235, 1957;
- 5 - TONKS, D. B.: Clin. Chem. 9: 217, 1983.

GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes **Bioclin** são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.

DADOS DO FABRICANTE

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: (31) 3439.5454 - Fax (31) 3439.5455
e-mail - bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente Tel.: 0800 0315454.
e-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro do kit de Transaminase TGO na ANVISA: 10269360139

Revisão: Dezembro/09