

Bioclin

TRANSAMINASE TGP K035

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Método para a determinação da transaminase pirúvica (ALT ou TGP). Teste colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Reitmann e Frankel

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

L-alanina + Alfa-cetoglutamato \longleftrightarrow L-glutamato + piruvato.

O piruvato reage com a dinitrofenilhidrazina. A intensidade de coloração da hidrazona formada, em meio alcalino, é diretamente proporcional à quantidade de piruvato, em determinado tempo, que, por sua vez, é em função da atividade enzimática.

REAGENTES

Número 1 - Substrato de TGP ou ALT - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: tampão fosfato 0,1 mol/L pH 7,4, L-alanina 0,2 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
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 - O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se os critérios de biossegurança, de acordo com a legislação vigente;

6 - Manusear com cuidado os reagentes Nº 1 e Nº 4, que contêm azida sódica, pois são irritantes para pele e mucosas;

7 - 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 TGP, pois as absorbâncias não são diretamente proporcionais a atividade enzimática. Preparar com bastante rigor a curva de calibração descrita abaixo:

Tubo	Padrão	Substrato de TGP	Água dest.	TGP U/mL
1	---	1,0 mL	200 µL	0
2	100 µL	0,9 mL	200 µL	28
3	200 µL	0,8 mL	200 µL	57
4	300 µL	0,7 mL	200 µL	97
5	400 µL	0,6 mL	200 µL	150

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 absorbâncias 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 absorbância (papel milimetrado) ou transmitância (papel monolog), e na abscissa, os valores de unidades/mL.

TÉCNICA

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

	TGP
Substrato TGP Nº 1	250 µL
Incubar a 37°C por 3 minutos	
Amostra	50 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 absorbância 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 TGP através da curva de calibração. Se o resultado obtido for acima de 140 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 possíveis alterações 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 TGP em populações sadias do sexo masculino e feminino.

TGP 4 a 32 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 TGP 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 105%.

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS E ESPECIFICIDADE METODOLÓGICA

O Kit Transaminase TGP Bioclin foi comparado com outro método para dosagem de TGP comercialmente disponível. Foram realizadas 07 análises e os resultados foram avaliados. A equação linear obtida foi $Y = 0,993X + 0,707$ e o coeficiente de correlação = 0,999. Com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

Precisão

REPETIBILIDADE

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

	AMOSTRA 1	AMOSTRA 2	AMOSTRA 3
Concentração média(U/mL)	14,45	23,10	35,40
Desvio Padrão (U/mL)	0,51	0,79	0,94
Coefficiente de Variação (%)	3,53	3,41	2,66

REPRODUTIBILIDADE

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

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração média (U/mL)	14,50	23,35	35,17
Desvio padrão (U/mL)	0,05	0,23	0,21
Coefficiente de Variação (%)	0,34	0,98	0,59

Sensibilidade

A sensibilidade do Kit Transaminase TGP Bioclin foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra isenta da presença de TGP. A média encontrada foi de 3,389 U/mL, com desvio padrão de 0,012 U/mL. A sensibilidade corresponde a média mais 3 vezes o desvio padrão, sendo igual a 3,424 U/mL.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

O aumento da atividade da enzima alanina amino transferase - TGP/ALT (de origem citoplasmática) reflete as alterações de vários tecidos. A maior atividade desta enzima está localizada no tecido hepático. Menores atividades ocorrem no músculo esquelético, coração, rins e pâncreas. Sua atividade encontra-se aumentada na hepatite viral e tóxica (30-50 ou 100 vezes o VR), bem como em outras doenças hepáticas (DH), associadas à necrose hepática. 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 colestatases intra e extra hepáticas.

NÚMERO DE TESTES

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

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CABAL, P., LEEPER, R., WROBLEWISKI, F.: Am. J. Clin. Path. 26: 1101, 1956;
- LA DUE, J. S., WROBLEWISKI, F., KARMEN, A.: Science 120:497, 01954;
- MOHUN, A. F., COOK, I. J. Y.: Am. J. Clin. Path. 27:235, 1957;
- WROBLEWISKI, F., CABAUD, P., Am. J. Clin. Path. 27:235, 1957;
- 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 TGP na ANVISA: 10269360140

Revisão: Setembro/11