

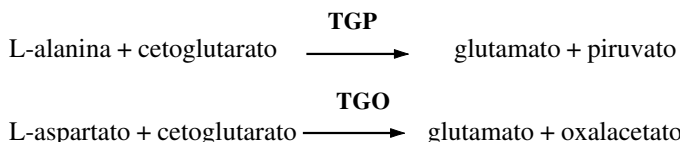
FINALIDADE

Sistema colorimétrico para dosagem de transaminases no soro, plasma e líquido.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO

As transaminases são enzimas que catalisam a transferência de grupamentos amina e alfa aminoácidos para alfa acetoácidos:



O piruvato e o oxalacetato formados são proporcionais à atividade enzimática e medidos através da formação de suas hidrazonas, intensamente coradas, em meio alcalino.

PARTICULARIDADES DO SISTEMA

Doles apresenta, em única embalagem, reagentes para dosagem de ambas transaminases. Uma curva de calibração é suficiente para os dois testes.

METODOLOGIA

Frankel Reitman.

REAGENTES

Substrato TGP: solução 0,2M de L-alanina, 0,002M Alfa Cetoglutarato, tampão de fosfatos 0,1M pH 7,4.

Substrato TGO: solução 0,2M de L-aspartato, 0,002M Alfa Cetoglutarato, tampão de fosfatos 0,1M pH 7,4.

Solução padrão: solução de Piruvato de Sódio estabilizado.

Reagente de cor: solução 0,001M de 2,4 Dinitrofenilhidrazina.

Hidróxido de Sódio : solução concentrada de Hidróxido de Sódio 12,4M.

APRESENTAÇÃO

Substrato TGP	1 x	26mL
Substrato TGO	1 x	28mL
Solução padrão	1 x	5mL
Reagente de cor	1 x	60mL
Hidróxido de Sódio (solução concentrada)	1 x	20mL

NÚMERO DE TESTES

50 testes TGP - 100µL amostra
100 testes TGP - 50µL amostra
50 testes TGO - 200µL amostra
100 testes TGO - 100µL amostra

EQUIPAMENTOS E MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro ou fotocolorímetro capaz de medir a absorvância em 505nm ou filtro verde.
- Tubos de ensaio.
- Pipetas graduadas.
- Pipetas semiautomáticas de 100µL e 200µL.
- Frasco plástico com capacidade mínima de 600mL.
- Banho maria (37°C).
- Cronômetro.
- Ponteiras descartáveis.
- Água deionizada ou destilada.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Substrato TGP: armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, obedecidas as condições de armazenamento.

Substrato TGO: armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, obedecidas as condições de armazenamento.

Solução padrão: armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, obedecidas as condições de armazenamento.

Reagente de cor: armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, obedecidas as condições de armazenamento.

Hidróxido de Sódio (concentrado): armazenar à temperatura de 2-30°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, obedecidas as condições de armazenamento.

Hidróxido de Sódio 0,4M: armazenar à temperatura de 20-30°C. Estável por 3 anos após o preparo, obedecidas as condições de armazenamento.

CUIDADOS E PRECAUÇÕES COM O USO DOS REAGENTES

Todos os reagentes são somente para **uso diagnóstico *in vitro***. Seu manuseio deve ser cuidadoso, evitando-se contato com pele e mucosas. Os reagentes contêm material cáustico. Caso ocorra contaminação acidental, lavar a área afetada em água corrente. O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se aos critérios de biossegurança estabelecidos pelo laboratório, de acordo com as normas locais, estaduais ou federais.

Observar ainda a simbologia constante nos rótulos do produto:



Corrosivo

Irritante

AMOSTRA

Soro, plasma (colhido com EDTA ou heparina) e líquido. O soro deve ser isento de hemólise pois a concentração das aminotransferases é consideravelmente maior nos eritrócitos. As atividades das enzimas permanecem estáveis por 24 horas à temperatura de 25°C, por 7 dias à temperatura de 2-8°C ou por 2 meses a 20°C negativos.

Todas as amostras biológicas devem ser consideradas como potencialmente infectantes.

PROCEDIMENTO TÉCNICO

Preparo da solução de Hidróxido de Sódio 0,4M:

Transferir para um frasco plástico contendo 600mL de água destilada ou deionizada todo volume do **Hidróxido de Sódio concentrado**. Homogeneizar e identificar. Armazenar à temperatura de 20-30°C. Estável por 3 anos após o preparo obedecidas as condições de armazenamento.

CURVA DE CALIBRAÇÃO

É necessário preparar uma curva de calibração, uma vez que as absorvâncias/transmitâncias não são proporcionais à atividade da enzima (TGO/AST e TGP/ALT).

Ao abrir o kit determinar a curva de calibração. Utilizar apenas o substrato TGO. Seguir rigorosamente as instruções abaixo:

1. Em um suporte, dispor 5 tubos com as respectivas soluções:

TUBO	ÁGUA	SUBSTRATO TGO	PADRÃO
n°	mL	mL	mL
1	0,2	1,0	0,0
2	0,2	0,9	0,1
3	0,2	0,8	0,2
4	0,2	0,7	0,3
5	0,2	0,6	0,4



2. Adicionar **1,0mL do reagente de cor** a cada tubo. Homogeneizar e deixar repousar durante 20 minutos à temperatura ambiente (20-30°C).

3. Decorridos os 20 minutos, acrescentar a cada tubo **10mL de Hidróxido de Sódio 0,4M** e misturar por inversão. Deixar repousar por 2 minutos e ler os tubos de 1 a 5 contra um **branco constituído de água destilada**, ajustado a 100% de transmitância, em **505nm** ou **filtro verde**.

ELABORAÇÃO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO

A curva de calibração deverá ser refeita a cada lote do produto.

A curva de calibração é constituída pela relação gráfica dos valores das transmitâncias com os valores das concentrações dos tubos 1 a 5.

A maioria dos equipamentos de semiautomação é capaz de traçar e armazenar a curva de calibração. Para tanto é necessário programar o equipamento. Aplicações específicas estão disponíveis no www.doles.com.br ou no Serviço de Atendimento ao Consumidor.

Para espectrofotômetro convencional a curva deve ser traçada de acordo com as instruções abaixo:

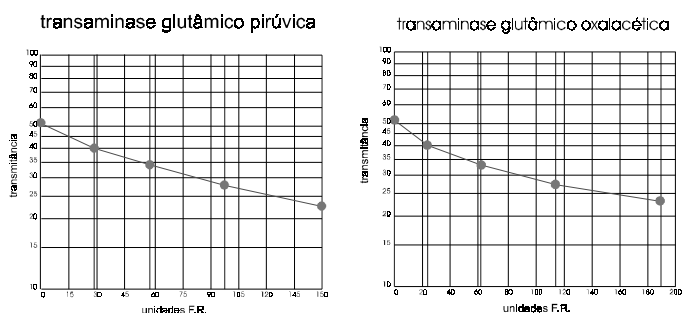
1- Lançar as leituras em transmitância no papel que acompanha o kit (semilogaritmo) nas duas faces do mesmo e traçar a curva de calibração para **TGP** e **TGO**.

2- Se as leituras forem feitas em absorvância, un. Klett, ou concentração direta utilizar papel milimetrado.

Unidades de Transaminases

TUBO	un. F.R./mL - TGO	un. F.R./mL - TGP
1	0	0
2	24	28
3	61	57
4	114	97
5	190	150

EXEMPLO - CURVA DE CALIBRAÇÃO



Obs.: Não utilizar estas curvas para determinar o resultado de seu ensaio.

- As dosagens para montagem da curva foram feitas em um espectrofotômetro "Ultrospec III", Pharmacia Biotec, comprimento de onda de 505nm e cubetas com passagem de luz de 10mm.
- O padrão utilizado na curva de calibração foi preparado segundo o trabalho original de Frankel-Reitman (Reitman, S. e Frankel S.: A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminase. Am. J. Clin. Path. 28, 56, 1957).

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA

Proceder como segue:

	TGP	TGO
Substrato TGP	0,5mL	-
Substrato TGO	-	0,5mL

Colocar em banho maria a 37°C, durante 2 minutos.

Amostra	100µL	200µL

Homogeneizar e incubar a 37°C, durante 30 minutos.

Reagente de cor	0,5mL	0,5mL

Homogeneizar e deixar em repouso, à temperatura ambiente (20-30°C), durante 20 minutos.

Hidróxido de Sódio 0,4M	5,0mL	5,0mL

Misturar e deixar repousar durante 2 minutos, à temperatura de 20-30°C. Ler as absorvâncias ou transmissões, em espectrofotômetro ou fotocolorímetro, em **505nm** ou **filtro verde**, acertando o zero com água destilada. Utilizando a curva de calibração procurar os valores em unidades **TGP** e **TGO**.

CÁLCULO

Para cálculo dos resultados, utiliza-se a curva de calibração, desenhada no papel semilogaritmo que acompanha o kit.

LINEARIDADE

- A atividade enzimática não é diretamente proporcional às respectivas absorvâncias. Em vista de tal fato, é obrigatório o uso de curva de calibração. Para valores acima de 150 un. F.R.(TGP) ou 190 un. F.R.(TGO), deve-se diluir o soro e proceder-se a uma nova determinação. Multiplica-se o valor encontrado pelo fator de diluição, que é feito, frequentemente, na proporção de 1:7 a 1:10.

EXPRESSÃO DOS RESULTADOS EM UNIDADES S.I.

Transaminases (U.I./L) = Transaminases un. F.R./mL x 0,482

LIMITAÇÕES DO SISTEMA

- Para se obter ótimo desempenho do sistema é necessário que o procedimento técnico seja rigorosamente seguido conforme instruções de uso. Qualquer alteração poderá levar a resultados errôneos.
- Amostras hemolisadas podem causar valores elevados de TGO.
- Discretos aumentos de transaminases podem ser encontrados em pacientes sob o uso de: acetaminofen, ampicilina, cloranfenicol, isoniazida, sulfonamidas, agentes anestésicos, codeína, cumarínicos, difenilhidantoína, etanol, anticoncepcionais orais e tiazidas.

CONTROLE DA QUALIDADE DO SISTEMA

1. A limpeza e a secagem adequada do material a ser utilizado são de fundamental importância para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
2. A água utilizada na limpeza do material, no preparo dos reagentes e na dosagem deve ser de boa qualidade.
3. Colunas deionizadoras saturadas liberam íons diversos, amins e agentes oxidantes que deterioram os reagentes.
4. As pipetagens devem ser precisas.
5. O uso de soro controle de referência deve ser uma prática rotineira do laboratório. Recomenda-se utilizar um soro controle com valor na faixa de normalidade (**soro controle N - Doles**) e outro soro controle de valor elevado (**soro controle P - Doles**).



6. Observar que, na curva de calibração, o volume de reagentes utilizados é o dobro do volume na reação propriamente dita.

7. O nível da água do banho-maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio e a temperatura (37°C), rigorosamente observada.

VALORES DE REFERÊNCIA

É recomendado que cada laboratório estabeleça sua própria faixa de valores de referência na população atendida.

Como orientação, sugerimos os seguintes valores:

TGP- soro 4 - 32un.F.R./mL

TGO- soro 4 - 36un.F.R./mL

SIGNIFICADO CLÍNICO

As transaminases (TGP e TGO) são enzimas encontradas em vários órgãos e tecidos, incluindo fígado, coração, musculatura esquelética, eritrócitos e outros.

A TGP é uma enzima de origem predominantemente hepática, sendo encontrada em pequenas quantidades no coração e musculatura esquelética. A enzima TGO é encontrada, principalmente, na musculatura cardíaca, musculatura esquelética e fígado.

Alterações marcantes de TGP estão presentes nos casos de hepatites agudas, independentemente da etiologia virótica.

A enzima TGO aumenta também nas hepatites agudas, porém de maneira menos marcante que a TGP. A relação TGP/TGO é superior a 1 nas hepatopatias agudas. Nas hepatopatias crônicas os valores de TGO são superiores aos de TGP.

No infarto do miocárdio, os níveis de TGO aumentam a partir de 8 a 12 horas após a lesão, atingindo valores máximos entre 24-48 horas. Os níveis de TGO tornam-se normais cerca de 4-6 dias após o infarto.

Com a introdução de metodologias que quantificam enzimas com maior especificidade para a musculatura cardíaca, caiu em desuso a quantificação da TGO para diagnóstico de infarto do miocárdio.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Transaminase Glutâmico Oxalacética

Foram realizados 43 testes em amostras cujos níveis de enzimas situavam-se entre 12 e 1.240un.F.R./mL. Estes ensaios foram realizados em paralelo com a metodologia descrita por Frankel-Reitman. A comparação do kit de Transaminase Glutâmico Oxalacética Doles (Y) com a técnica original de Frankel-Reitman (X) deu origem à seguinte equação de regressão linear: $Y = 0,66 + 0,997X$, sendo o coeficiente de correlação 0,99.

Testes de recuperação, utilizando como matriz soros com atividades enzimáticas entre 20 e 180un.F.R./mL, mostraram recuperação de 97,5 (mais ou menos 2,5%) após adição da enzima TGO com valores equivalentes a 40un.F.R./mL.

O erro da média foi de 1,68%.

Transaminase Glutâmico Pirúvica

Foram realizados 43 testes em amostras cujos níveis de enzimas situavam-se entre 10 e 1.280un.F.R./mL. Esses ensaios foram realizados em paralelo com a metodologia descrita por Frankel-Reitman. A comparação do kit de Transaminase Glutâmico Pirúvica Doles (Y) com a técnica original de Frankel-Reitman (X) deu origem à seguinte equação de regressão linear: $Y = 0,2 + 1,001X$, sendo o coeficiente de correlação 0,99.

Testes de recuperação, utilizando como matriz soros com atividades enzimáticas de TGP entre 25 e 160un.F.R./mL mostraram recuperação entre 97,0 e 102% após adição da enzima TGP, com valores equivalentes a 50un.F.R./mL.

O erro da média foi de 3,04%.

• TGO

Repetitividade: foram realizadas 20 dosagens sucessivas, com 2 amostras, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2
Concentração (un.F.R./mL)	44,67	108,07
Desvio padrão	1,11	1,28
Coefficiente de variação (%)	2,48	1,18

Reprodutibilidade: foram realizadas 20 dosagens, durante 20 dias consecutivos, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2
Concentração (un.F.R./mL)	37,96	90,10
Desvio padrão	0,65	0,98
Coefficiente de variação (%)	1,71	1,09

• TGP

Repetitividade: foram realizadas 20 dosagens sucessivas, com 2 amostras, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2
Concentração (un.F.R./mL)	29,15	97,59
Desvio padrão	0,91	1,20
Coefficiente de variação (%)	3,12	1,23

Reprodutibilidade: foram realizadas 20 dosagens, durante 20 dias consecutivos, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2
Concentração (un.F.R./mL)	31,93	112,29
Desvio padrão	1,21	1,97
Coefficiente de variação (%)	3,79	1,75

Especificidade: a presente metodologia é específica para determinação das transaminases, no entanto, os detalhes que dizem respeito a tempo, temperatura e pH devem ser cuidadosamente observados durante a realização dos testes e da curva de calibração.

Sensibilidade: variações da transmitância em 1,6% e 2% correspondem, respectivamente, a 1un. F.R. de TGP e TGO, quando testados em espectrofotômetro, em 505nm, e cubeta com 10mm de espessura. A sensibilidade do sistema está diretamente relacionada com a do aparelho.

Diluição da matriz: estudos sucessivos de diluição da matriz mostraram que não há interferência na sensibilidade diagnóstica da presente metodologia de Reitman e Frankel.

Substâncias interferentes: o soro deve ser isento de hemólise, pois a atividade das aminotransferases é consideravelmente maior nos eritrócitos. Em amostras com teores elevados de bilirrubina e lipemia, deve-se fazer um branco da amostra, seguindo-se a técnica, mas omitindo os tempos de incubação. O reagente de cor deverá ser colocado imediatamente após o soro.



Certos medicamentos podem interferir nos níveis das transaminases (ver limitações do sistema). Para controle de tal interferência, recomenda-se que o paciente seja questionado quanto ao uso de medicamentos.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- Reitman, S. e Frankel S.: *A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminase. Am. J. Clin. Path.* 28:56, 1957.
- Ravel R.: *Laboratório clínico aplicações clínicas dos achados laboratoriais*, 4ª edição
- Tibúrcio, H.M.: *Controle interno da qualidade analítica*, 1ªed. março/1995.
- Doles: dados de arquivo.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

As garantias do fabricante ao consumidor seguem estritamente as relacionadas na Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1.990 - **Código de Defesa do Consumidor**.

Todos os reagentes que compõem este sistema para diagnóstico são garantidos na sua performance, reprodutibilidade e qualidade até a data de vencimento dos mesmos, se obedecidas as condições abaixo:

- 1.O usuário do sistema seguir, rigorosamente, o procedimento técnico.
- 2.As condições de armazenamento deverão estar de acordo com o estabelecido nas instruções de uso.
- 3.Os materiais necessários e não fornecidos deverão estar em boas condições técnicas.

Todos os produtos que apresentarem problemas técnicos comprovados serão substituídos, sem ônus para o consumidor.

Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda.

CNPJ: 01.085.513/0001-05

Rodovia BR 153, Km 1273, Lt.07, Chácara Retiro

CEP: 74001-970 Goiânia - GO - Brasil

Caixa Postal 1051

e-mail: doles@doles.com.br

M.S.: nº 10231810028

Revisão: 14 (08/2009)

NBR ISO 9001

**Sistema da Qualidade
certificado desde 1999**

