

TGP

Kit para determinação da transaminase glutâmico-pirúvica por colorimetria.

REF. 353

MS 80022230150



Analisa

MÉTODO

Colorimétrico (Reitman-Frankel).

FINALIDADE

Reagentes para determinação da atividade da transaminase glutâmico-pirúvica (TGP ou GPT) ou alanina aminotransferase (ALT) no soro, plasma e líquido. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO

A TGP catalisa a transferência do grupo amina da alanina para o cetoglutarato com formação de glutamato e piruvato.

O piruvato formado reage com a 2-4-dinitrofenilhidrazina formando a hidrazona que adquire coloração máxima pela adição de hidróxido de sódio.

A intensidade de coloração é proporcional à atividade enzimática da amostra.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) é uma enzima encontrada predominantemente no fígado, em concentração moderada nos rins e em menores quantidades no coração e nos músculos esqueléticos. Na célula hepática, a TGP localiza-se no citoplasma (90%) e na mitocôndria (10%).

Qualquer lesão (injúria) tissular ou doença afetando o parênquima hepático liberará uma maior quantidade da enzima para a corrente sanguínea, elevando os níveis séricos da TGP.

Em geral, as causas mais comuns de elevação dos valores de TGP no sangue ocorrem por disfunção hepática. Desta maneira, a TGP além de ser sensível é também bastante específica para o diagnóstico de doença hepatocelular.

Convém ressaltar que uma lesão tecidual nos rins, coração e nos músculos esqueléticos também provoca uma maior liberação de TGP para a corrente sanguínea, elevando seus níveis séricos. Assim, diante de um quadro clínico de miosite ou de uma rabdomiólise grave, os valores de TGP podem elevar-se tanto quanto na hepatite virótica aguda.

Na hepatite virótica, na mononucleose infecciosa e na lesão hepatocelular induzida por drogas, o grau e a frequência da elevação dos níveis de TGP são praticamente os mesmos da TGO. Já nos casos de cirrose ativa, hepatopatia alcoólica aguda, congestão hepática passiva, obstrução dos ductos biliares extra-hepáticos e tumor metastático do fígado, os níveis de TGP encontram-se frequentemente menos elevados do que os da TGO.

A relação TGO/TGP (Índice DeRitis) tem sido empregada algumas vezes para auxiliar no diagnóstico diferencial das hepatopatias.

Na hepatite virótica aguda, a relação TGO/TGP é sempre menor que 1, enquanto que nas outras doenças hepatocelulares (cirrose, hepatites crônicas, etc) é sempre maior que 1.

Valores elevados: Os valores elevados de TGP são mais comumente verificados nas seguintes patologias: hepatites, cirrose, necrose hepática, colestase, isquemia hepática, tumor hepático, drogas hepatotóxicas, icterícia obstrutiva, miosite e pancreatite.

QUALIFICAÇÕES DO MÉTODO

- Metodologia cinética colorimétrica de tempo fixo, simples e segura para a determinação da atividade da transaminase glutâmico pirúvica.
- Emprega reagentes rigorosamente padronizados e estabilizados visando a manutenção de rígidas e ótimas condições para a ação enzimática.
- A metodologia permite obter resultados exatos e precisos se for executada conforme descrita nesta Instrução de Uso.

IDENTIFICAÇÃO DOS REAGENTES

1. **Padrão** - Contém piruvato de sódio 2 mmol/L. Conservar entre 2-8 °C.
2. **TGP-Substrato** - Contém tampão pH 7,4; L-alanina 100 mmol/L; ácido alfa-cetoglutárico 2 mmol/L e azida sódica 15,4 mmol/L. Conservar entre 2-8 °C.
3. **Reagente de Cor** - Contém 2,4-dinitrofenilhidrazina 1 mmol/L; ácido clorídrico 1 mol/L. Conservar entre 2-8 °C.
4. **NaOH-Estoque** - Contém hidróxido de sódio 1,25 mol/L. Conservar na temperatura ambiente.

ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até o vencimento da data de validade impressa no rótulo do produto e na caixa quando conservados na temperatura recomendada, bem vedados e se evite a contaminação durante o uso.

O Padrão (1), o TGP-Substrato (2) e o Reagente de Cor (3) devem ser mantidos na temperatura de 2-8 °C.

Conservar o NaOH-Estoque (4) na temperatura ambiente.

Preparo do NaOH de Uso

Transferir quantitativamente o conteúdo do frasco de NaOH-Estoque (4) para um balão volumétrico de 500 mL e completar o volume com água destilada ou deionizada livre de CO₂.

Homogeneizar bem e armazenar em frasco plástico na temperatura ambiente. Estável 12 meses.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro (leitura entre 490-540 nm);

- Banho-maria ou termostator na temperatura constante de 37 °C;
- Tubos e pipetas;
- Cronômetro;
- Papel milimetrado ou semilog para traçar curva de calibração.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes e amostra biológica.
- Recomendamos o uso das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos para a execução do teste.
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras e reagentes devem ser manuseados como materiais potencialmente infectantes.
- O TGP-Substrato (2) contém azida sódica como conservante. Não ingerir ou aspirar. Evitar contato com a pele e mucosa.
- O Reagente de Cor (3) e o reagente NaOH-Estoque (4) são corrosivos. Manipular com cuidado para evitar queimaduras.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.

AMOSTRA

SORO, PLASMA (EDTA, Heparina) e LÍQUOR.

A atividade enzimática é estável por 4 dias entre 2-8°C e 2 semanas a 10 °C negativos.

Nota: Recomendamos que a coleta, preparação, armazenamento e descarte das amostras biológicas sejam realizadas seguindo as recomendações das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Enfatizamos que os erros provenientes da amostra podem ser muito maiores do que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

CÁLCULOS ATRAVÉS DA CURVA DE CALIBRAÇÃO

A metodologia de Reitman-Frankel para a dosagem das transaminases (TGO e TGP) não obedece a Lei de Lambert-Beer, isto é, as Unidades RF de TGO ou TGP/mL não são diretamente proporcionais à atividade enzimática. Portanto, não é possível usar o método do fator para cálculo das unidades, sendo obrigatório a preparação da curva de calibração.

*Unidades Reitman-Frankel/mL = U RF/mL

CURVA DE CALIBRAÇÃO

Técnica: Tomar 5 tubos e seguir as instruções abaixo.

* Volumes indicados nas tabelas = mL

Tubo nº	1	2	3	4	5
Padrão (1)	-----	0,05	0,10	0,15	0,20
TGP-Substrato (2)	0,50	0,45	0,40	0,35	0,30
Água deionizada	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Reagente de Cor (3)	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50

Misturar e deixar na temperatura ambiente por 20 minutos.

Tubo nº	1	2	3	4	5
NaOH de Uso	5	5	5	5	5

Homogeneizar bem.

Esperar 5 minutos na temperatura ambiente.

Determinar as absorvâncias (A) ou transmitâncias (T%) em 505 nm ou filtro verde (490 a 540), acertando o Zero com água deionizada.

A cor é estável por 60 minutos.

Traçado da Curva de Calibração

Traçar a curva de calibração correlacionando as leituras obtidas com os valores em U RF/mL, expressos na tabela abaixo.

Para leituras fotométricas em absorvância usar papel linear (milimetrado) e para leituras em transmitância (T%) usar papel monolog (semilog).

Tubo nº	1	2	3	4	5
TGP (U/mL)	zero	28	57	97	150

DOSAGEM DO TESTE

Técnica: Tomar 1 tubo e seguir as tabelas:

Tubo	Teste
TGP-Substrato (2)	0,25 mL

Incubar em banho-maria a 37 °C por 2 minutos. O nível da água no banho deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio.

Tubo	Teste
Amostra	0,05 mL

Misturar. Incubar em banho-maria a 37 °C exatamente por 30 minutos.

Tubo	Teste
Reagente de Cor (3)	0,25 mL

Misturar e deixar na temperatura ambiente por 20 minutos.

Tubo	Teste
NaOH de Uso	2,5 mL

Homogeneizar.

Esperar 5 minutos na temperatura ambiente.

Determinar as absorvâncias ou T% em 505 nm ou filtro verde (490 a 540), acertando o Zero com água destilada.

A cor é estável por 60 minutos.

Cálculos

Obter o valor de TGP usando a Curva de Calibração (Ver Linearidade).

VALORES DE REFERÊNCIA

Soro ou plasma: 4 a 32 U RF/mL ou 1,9 a 15,4 U/L

Estes valores devem ser usados como uma orientação.

É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

Conversão de Unidades (U RF/mL para SI): U/L = U RF/mL x 0,482

CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório clínico deve manter um Programa de Garantia da Qualidade para assegurar que todos os procedimentos laboratoriais sejam realizados de acordo com as Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Para controle e verificação do desempenho do kit podem ser utilizadas amostras controle com valores estabelecidos pelos fabricantes.

É importante que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores médios e os respectivos limites de variação.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO⁸

Linearidade

A reação é linear até 150 unidades/mL. Para valores maiores, diluir a amostra com NaCl 150 mmol/L (0,85%) e realizar uma nova determinação. Multiplicar o valor obtido pelo fator de diluição empregado. Esta diluição deve ser tal que a amostra diluída forneça valores de TGP entre 50 e 120 unidades/mL.

Repetitividade

A imprecisão intra-ensaio foi calculada com 20 determinações sucessivas de TGP, utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes. As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 2,2 e 1,7%.

Reprodutibilidade

A imprecisão inter-ensaio foi calculada com 20 determinações de TGP em dias diferentes, utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes.

As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 1,1 e 3,6%.

OBSERVAÇÕES

1. A observação minuciosa da limpeza e secagem da vidraria, da estabilidade dos reagentes, da pipetagem, da temperatura e do tempo de reação é de extrema importância para se obter resultados precisos e exatos.
2. Na limpeza da vidraria pode-se empregar um detergente neutro ou uma solução ácida. A última lavagem deve ser feita com água destilada ou deionizada.
3. A água utilizada nos laboratórios clínicos deve ser purificada utilizando-se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, aminas e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Fundamento de Química Clínica, 4ª Ed - Guanabara Koogan SA; 1998.
2. Cabaud, P.: Am. J. Clin. Path, 26, 1101, 1956. 3. Henry,R.J.: Clinical Chemistry - Principles and Technics, 2ª Ed. Harper and Row, 1974.
3. Karmen A. J Clin Invest 1955;34:131.
4. Ladue, J.S.: Science 120, 497, 1954.
5. Lopes HJJ. Enzimas no Laboratório Clínico-Aplicações Diagnósticas. Belo Horizonte, Analisa Diagnóstica, 1998.
6. Reitman S, Frankel S. Am J Clin Path 1957;28:56.
7. Wroblewski F, Cabaud P. Am J Clin Path 1957;27:235.
8. GOLD ANALISA: Informe Técnico do Produto.

APRESENTAÇÃO

REF.	Reagentes	Volume
353	Padrão	1 x 4 mL
	TGP Substrato	1 x 50 mL
	Reagente de Cor	1 x 50 mL
	NaOH-Estoque	1 x 160 mL

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

Lei nº 8.078 de 11-9-90 - Código de Defesa do Consumidor

A Gold Analisa garante a substituição, sem ônus para o consumidor, de todos os produtos que comprovadamente apresentarem problemas técnicos, desde que o usuário utilize equipamentos e materiais em boas condições técnicas, siga rigorosamente o procedimento técnico e as recomendações estabelecidas nas Instruções de Uso.

Nº do lote e data de validade: Vide Rótulos do Produto

Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16

AF MS Nº 800222-3 - Reg. MS - Nº 80022230150

Farm. Resp. José Gilmar Pereira Berto - CRF-MG 13421

Av. Nossa Senhora de Fátima, 2363 - Carlos Prates - Fone: (31) 3272-1888

Belo Horizonte MG Brasil CEP: 30710-020









Home page: www.goldanalisa.com.br

E-mail: goldanalisa@goldanalisa.com.br

Setor de Apoio ao Cliente (SAC): 0800 703 1888

Analisa é marca registrada da Gold Analisa Diagnóstica Ltda

SIMBOLOGIA

	Número do catálogo		Limite de temperatura
	Número do lote		Produto para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Data limite de utilização		Consultar as instruções de uso
	Fabricado por		Corrosivo

Revisão: 02/18