

TRANSAMINASE TGP

REF K035

INSTRUÇÕES DE USO

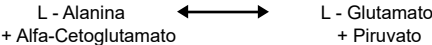
FINALIDADE

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

PRINCÍPIO DE AÇÃO

**Metodologia:** Reitmamm e Frankel

A Transaminase catalisa a transferência do agrupamento Amino de um Alfa-Aminoácido para um Alfa-Cetoácido.



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 TGP** - 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 (22 mg/dL de Piruvato), Tampão Fosfato 0,1 mol/L (pH 7,4) e Azida Sódica 7,7 mmol/L.

APRESENTAÇÃO

| Reagente | Volume |
|----------|--------|
| Nº 1     | 50 mL  |
| Nº 2     | 50 mL  |
| Nº 3     | 40 mL  |
| 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, Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin. 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. **Não congelar.**

CUIDADOS ESPECIAIS

**1- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.**

**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 substâncias contaminantes.

**4-** Apesar do substrato conter preservativo, deve-se evitar contaminação bacteriana.

**5-** Manusear com cuidado os Reagentes Nº 1 e Nº 4, que contêm Azida Sódica, pois são irritantes para pele e mucosas.

**6-** 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.

**7-** Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.

**8-** Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

**9-** Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.

**10-** É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

AMOSTRAS

Soro ou plasma colhido com EDTA ou Heparina, obtido livre de hemólise. A amostra é estável por 3 dias entre 2 e 8°C, e 3 meses a -20°C <sup>6</sup>.

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 CO<sub>2</sub>. Homogeneizar bem e armazenar em frasco plástico. Estável em temperaturas entre 15 e 30°C, até a validade do produto impressa no rótulo.

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 TGP | Água destilada | 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 nm), 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 U/mL.

TÉCNICA

A Bioclin recomenda, para uso do kit, utilizar como soro controle os kits Biocontrol N e P Bioclin.

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

|                                                                                                 | TGP    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Reagente 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 nm), 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.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

Testar periodicamente a calibração para detectar possíveis alterações na resposta do espectrofotômetro ou do colorímetro.

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

O Laboratório Clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, onde procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente estabelecidos. É importante ressaltar que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica característica, que deve ser monitorada pelos próprios laboratórios. Para tanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens.

RASTREABILIDADE

O padrão do kit é rastreável ao material de referência ERM-AD454.

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 U/mL

Para converter os valores de U/mL em unidades internacionais (UI), multiplicar por 0,482.

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.

Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.



DESEMPENHO DO PRODUTO  
CONTROLE DE QUALIDADE

Exatidão  
RECUPERAÇÃO

A análise de recuperação do kit Transaminase TGP 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 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 foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se 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 foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se 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 foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra isenta de TGP. A média encontrada foi 3,389 U/mL, com desvio padrão de 0,012 U/mL. A sensibilidade, que indica o limite de deterção do método, corresponde a média mais 3 vezes o desvio padrão, e é igual a 3,424 U/mL.

Linearidade

A reação é linear até a concentração de 140 U/L. Para amostras com valores acima de 140 U/L recomenda-se diluir a amostra com Cloreto de Sódio 0,85%, repetir a dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

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 colestases intra e extra hepáticas.

NÚMERO DE TESTES

200 Testes / 50 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.
- 6 - WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.

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.

 **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

 **OBELIS S.A.**

Bd. Général Wahis, 53  
1030 Brussels, Belgium

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

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

Número de registro do kit Transaminase TGP na ANVISA: 10269360140

Revisão: Março/2019

SIMBOLOGIA UNIVERSAL



NÚMERO DE CATÁLOGO



FABRICADO POR



NÚMERO DO LOTE



CONTROLE



DATA DE FABRICAÇÃO



CONTROLE POSITIVO



DATA DE VALIDADE  
(último dia do mês)



CONTROLE NEGATIVO



LIMITE DE TEMPERATURA  
(conservar a)



RISCO BIOLÓGICO



O CONTEÚDO É SUFICIENTE  
PARA <N> TESTES



INFLÂMABEL



CONSULTAR INSTRUÇÕES  
DE USO



CORROSIVO



PRODUTO PARA  
DIAGNÓSTICO IN VITRO



TÓXICO



REPRESENTANTE  
EUROPEU AUTORIZADO



MARCA CE



PROTEGER DA  
LUZ E CALOR



NÃO UTILIZAR SE A  
EMBALAGEM ESTIVER  
DANIFICADA

TRANSAMINASE TGP

REF K035

INSTRUCCIONES DE USO



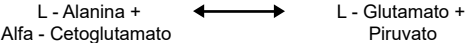
FINALIDAD

Método para la determinación de la Transaminase Pirúvica (ALT o TGP). Test colorimétrico, solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

**Metodología:** Reitamm y Frankel

La Transaminase cataliza la transferencia del agrupamiento Amino de un Alfa-Aminoácido para un Alfa-Cetoácido.



El Piruvato reacciona con la Dinitrofenilhidrazina. La intensidad de coloración de la Hidrazona formada, en medio alcalino, es directamente proporcional a la cantidad de Piruvato, en determinado tiempo, que, por su vez, es en función de la actividad enzimática.

REACTIVOS

**Número 1 - Sustrato TGP** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Tampón Fosfato 0,1 mol/L (pH 7,4), L-Alanina 0,2 mol/L, Ácido Alfa Cetoglutárico 2 mmol/L y Azida Sódica 7,7 mmol/L.

**Número 2 - Reactivo de Color** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: 2,4-Dinitrofenilhidrazina 1,0 mmol/L y Ácido Clorídrico 1,0 mol/L.

**Número 3 - Hidróxido de Sodio Concentrado** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Hidróxido de Sodio 5 mol/L.

**Número 4 - Patrón** - Almacenar entre 2 y 8°C. Homogenizar bien antes de usar. Contiene: Piruvato de Sodio 2,53 mmol/L (22 mg/dL de Piruvato), Tampón Fosfato 0,1 mol/L (pH 7,4) y Azida Sódica 7,7 mmol/L.

PRESENTACIÓN

| Reactivo | Volumen |
|----------|---------|
| Nº 1     | 50 mL   |
| Nº 2     | 50 mL   |
| Nº 3     | 40 mL   |
| Nº 4     | 4 mL    |

EQUIPAMIENTOS E INSUMOS OPERACIONALES

Espectrofotómetro o colorímetro, baño maría (37°C), reloj o cronómetro, pipetas, tubos de ensayo, papel monolog o milimetrado, Biocontrol N y Biocontrol P Bioclin. Se encuentran en el mercado especializado de artículos para Laboratórios de Análisis Clínicos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento deberá ser de 2 a 8°C. El transporte, en temperaturas entre 15 y 30°C, no deberá exceder a 72 (setenta y dos) horas. Mantener al abrigo de la luz y evitar humedad. **No congelar.**

CUIDADOS ESPECIALES

- 1- **Solamente para el uso diagnóstico *in vitro* profesional.**
- 2- Seguir con rigor la metodología propuesta para obtención de resultados exactos.
- 3- El agua utilizada en la limpieza del material debe ser reciente exenta de agentes contaminantes.

- 4- Apesar del Sustrato contiene preservativo, se debe evitar contaminación bacteriana.
- 5- Manosear con cuidado los Reactivos Nº 1 y Nº 4, que contiene Azida Sódica, pues son irritantes para la piel y mucosas.
- 6- El Reactivo Nº 3 es cáustico; evitar contacto con la piel. El Reactivo Nº 2 contiene ácido y debe ser manipulado con cuidado, pues es irritante para la piel y mucosas, pudiendo causar quemadura leve.
- 7- Se recomienda la aplicación de la ley local, estatal y federal de protección ambiental para la eliminación de reactivos y material biológico se hace de acuerdo con la legislación vigente.
- 8- Para obtener información relacionada con la seguridad biológica o en caso de accidentes con el producto, consultar la FISPQ (Ficha de Informaciones de la Seguridad de Productos Químicos) disponibles en el site [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) o solicitando a través del SAC (Servicio de Asesoría al Cliente) de Quibasa.
- 9- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.
- 10- Es esencial que los instrumentos y equipos utilizados estén adecuadamente calibrados y sometidos a mantenimientos periódicos.

MUESTRAS

Suero o plasma cogido con EDTA o Heparina, obtenido libre de hemólisis. La muestra es estable por 3 días entre 2 y 8°C, y 3 meses a -20°C 6.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

PREPARO DEL HIDRÓXIDO DE SÓDIO DE USO (0,4N)

Transferir cuantitativamente el contenido del frasco Nº 3 (40 mL) para un balón volumétrico de 500 mL y completar hasta la marca con agua destilada o deionizada libre de CO<sub>2</sub>. Homogenizar bien y almacenar en frasco plástico. Estable a temperaturas entre 15 y 30°C, hasta la validez del producto impreso en la etiqueta.

CURVA DE CALIBRACIÓN

No usar el método del factor para las dosificaciones de TGP, pues las absorbancias no son directamente proporcionales a la actividad enzimática. Preparar con bastante rigor la curva de calibración descrita abajo:

| Tubo | Patrón | Sustrato TGP | Agua destilada | 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      |

Adicionara cada tubo 1,0 mL de Reactivo de Color Nº 2, homogenizar y dejar en reposo por 20 minutos a temperatura ambiente. Opcionalmente, este tiempo puede ser reducido para 5 minutos, incubando en baño maría a 56°C. Adicionar 10,0 mL de Hidróxido de Sodio de Uso (0,4 N). Homogenizar y dejar en reposo por 5 minutos. El color permanece estable por 60 minutos. Determinar las absorbancias o transmitancias en 505 nm (490 - 540nm), acertando el cero con agua destilada o deionizada. Trazar la curva de calibración, colocando en la ordenada los valores de absorbancia (papel milimetrado) o transmitancia (papel monolog), y en la abscisa, los valores de U/mL.

TÉCNICA

La Bioclin recomienda, para uso del kit, utilizar como suero control los kits Biocontrol N y P Bioclin.

Marcar los tubos de ensayo para dosificación de la TGP y proceder como sigue:

|                                                                                               | TGP    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Reactivo Nº 1                                                                                 | 250 µL |
| Incubar a 37°C por 3 minutos.                                                                 |        |
| Muestra                                                                                       | 50 µL  |
| Homogeneizar e incubar a 37°C por 30 minutos.                                                 |        |
| Reactivo Nº 2                                                                                 | 250 µL |
| Homogeneizar y dejar en reposo por 20 minutos a temperatura ambiente ou por 5 minutos a 56°C. |        |
| Hidróxido de Sodio de Uso                                                                     | 2,5 mL |

Homogenizar por inversión y dejar en reposo por 5 minutos, a temperatura ambiente. Transferir para las cubetas y medir la absorbancia o transmitancia en 505 nm (490 - 540nm), acertando el cero con agua destilada o deionizada. El color es estable por 30 minutos. Calcular los valores de TGP a través de la curva de calibración.

LIMITACIONES DEL PROCESO

Testar periódicamente la calibración para detectar posibles alteraciones en la respuesta del espectrofotómetro o del colorímetro.

CONTROL INTERNO DE CALIDAD

El Laboratorio Clínico debe poseer un programa interno de control de calidad, donde procedimientos, normas, límites y tolerancia para variaciones sean claramente establecidos. Es importante resaltar que todos los sistemas de medición presentan una variabilidad analítica característica, que debe ser vigilada por los propios laboratorios. Por lo tanto, es recomendable la utilización de controles, que permiten la evaluación, la precisión y la exactitud de las dosificaciones.

TRAZABILIDAD

El patrón del kit es trazable al material de referencia ERM-AD454.

VALORES DE REFERENCIA

Los valores de referencia, en U/mL, para el presente método fueron obtenidos a través de la determinación de TGP en poblaciones sanas del sexo masculino y femenino.  
TGP ..... 4 a 32 U/mL  
Para convertir los valores de U/mL en unidades internacionales (UI), multiplicar por 0,482.  
Estos valores deben ser usados como orientación, siendo que cada laboratorio deberá crear su rango de valores de referencia, de acuerdo con la población atendida.  
Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable, no siendo el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO  
CONTROL DE CALIDAD

Exactitud  
RECUPERACIÓN

El análisis de recuperación del kit Transaminase TGP fue hecha con 05 determinaciones de muestras. Las exactitudes fueron calculadas y se encontraron en buena concordancia con los valores de referencia, obteniendo una recuperación entre 95 y 105%.

COMPARACIÓN DE MÉTODOS Y ESPECIFICIDAD METODOLÓGICA  
El kit Transaminase TGP fue comparado con otro método para dosificación de TGP comercialmente disponible. Fueron realizadas 07 análisis y los resultados fueron evaluados. La ecuación linear obtenida fue  $Y = 0,993X + 0,707$  y el coeficiente de correlación 0,999. Con estos resultados, se puede concluir que el kit presenta buena especificidad metodológica.

Precisión  
REPETIBILIDAD

La repetibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

|                               | Muestra 1 | Muestra 2 | Muestra 3 |
|-------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Concentración Promedio (U/mL) | 14,45     | 23,10     | 35,40     |
| Desvío Patrón (U/mL)          | 0,51      | 0,79      | 0,94      |
| Coefficiente de variación (%) | 3,53      | 3,41      | 2,66      |

REPRODUCIBILIDAD

La reproductibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

|                               | Muestra 1 | Muestra 2 | Muestra 3 |
|-------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Concentración Promedio (U/mL) | 14,50     | 23,35     | 35,17     |
| Desvío Patrón (U/mL)          | 0,05      | 0,23      | 0,21      |
| Coefficiente de variación (%) | 0,34      | 0,98      | 0,59      |

Sensibilidad

La sensibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones de una muestra exenta de TGP. El promedio encontrado fue de 3,389 U/mL, con desvío patrón de 0,012 U/mL. La sensibilidad, que indica el limite de detección del método, corresponde al promedio mas 3 veces el desvío patrón, y es igual a 3,424 U/mL.

Linealidad

La reacción es linear hasta la concentración de 140 U/L. Para muestras con valores encima de 140 U/L se recomienda diluir la muestra con Cloruro de Sódio 0,85%, repetir la dosificación y multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

El aumento de la actividad de la enzima Alanina Amino Transferase - TGP/ALT (de origen citoplasmática) refleja las alteraciones de varios tejidos. La mayor actividad de esta enzima está localizada en el tejido hepático. Menores actividades

ocurren en el músculo esquelético, corazón, riñones y pancreas. Su actividad se encuentra aumentada en la hepatitis viral y tóxica (30 - 50 o 100 veces el VR), bien como en otras dolencias hepáticas (DH), asociadas a la necrosis hepática. En las DH crónicas, asociadas a la necrosis celular, debido al aumento de la liberación de AST (mitocondrial), puede ocurrir inversión de la relación ALT/AST. Ocurre, aún, aumento de sus niveles en la mononucleosis infecciosa y en las colestasis intra y extra hepáticas.

NÚMERO DE PRUEBAS

200 Pruebas / 50 µL de Muestra / 3 mL de Reactivo

REFERENCIAS 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.
- 6 - WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.

GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de ser liberado para el consumo, todos los reactivos **Bioclin** son testados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos es asegurada hasta la fecha de validad mencionada en el embalaje de presentación, desde que sean almacenados y transportados en las condiciones adecuadas.



**QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda**  
Rua Teles de Menezes, 92 – Santa Branca  
CEP 31565-130 – Belo Horizonte – MG – Brasil  
Tel.: +55 (31) 3439.5454 – Fax: +55 (31) 3439.5455  
E-mail: bioclin@bioclin.com.br  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 – Indústria Brasileira



**OBELIS S.A.**  
Bd. Général Wahis, 53  
1030 Brussels, Belgium

ATENDIMIENTO AL CONSUMIDOR

Servicio de Asesoría al Cliente  
Tel.: 0800 0315454  
E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro del kit Transaminase TGP en la ANVISA: 10269360140

Revisión: Marzo/2019

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL



NÚMERO DEL CATÁLOGO



ELABORADO POR



NÚMERO DE LOTE



CONTROL



FECHA DE FABRICACIÓN



CONTROL POSITIVO



ESTABLE HASTA  
(último día del mês)



CONTROL NEGATIVO



TEMPERATURA LIMITE  
(conservar a)



RIESGO BIOLÓGICO



CONTENIDO SUFICIENTE  
PARA <N> TESTES



INFLAMABLE



CONSULTAR INSTRUCCIONES  
DE USO



CORROSIVO



DISPOSITIVO DE  
DIAGNÓSTICO IN VITRO



TÓXICO



EUROPEA REPRESENTANTE  
AUTORIZADO



MARCADO CE



PROTEGER DEL  
LUZ Y CALOR



NO UTILICE SI EL  
EMBALAJE ESTA  
DAÑADA

TRANSAMINASE ALT

REF K035

USAGE INSTRUCTIONS

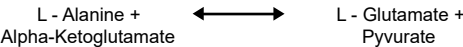


FUNCTION

Method for determination of Pyruvic Transaminase (ALT). Colorimetric test. For *in vitro* diagnostic only.

PRINCIPLE OF ACTION

**Methodology:** Reitmamm and Frankel  
The Transaminase catalyzes the transfer of the Amino group from an Alpha-Amino Acid to a Alpha-Keto Acid.



The pyruvate reacts with the dinitrophenylhydrazine. The intensity of the color of the formed hydrazone, in an alkaline environment, is directly proportional to the quantity of the Pyruvate, in a determinate time, in function of the enzymatic activity.

REAGENTS

**Number 1 - ALT Substrate** - Store between 2 and 8°C. Contains: Phosphate Buffer 0,1 mol/L (pH 7,4), L-Alanine 0,2 mol/L, Alpha-Ketoglutarate Acid 2 mmol/L, and Sodium Azide 7,7 mmol/L.

**Number 2 - Color Reagent** - Store between 2 and 8°C. Contains: 2,4-Dinitrophenylhydrazine 1,0 mmol/L and Chloridric Acid 1,0 mol/L.

**Number 3 - Concentrated Sodium Hydroxide** - Store between 2 and 8°C. Contains: Sodium Hydroxide 5 mol/L.

**Number 4 - Standard** - Store between 2 and 8°C. Homogenized well before use. Contains: Sodium Pyruvate 2,53 mmol/L (22 mg/dL Pyruvate), Phosphate Buffer 0,1 mol/L (pH 7,4) and Sodium Azide 7,7 mmol/L

PRESENTATION

| Reagent | Volume |
|---------|--------|
| N° 1    | 50 mL  |
| N° 2    | 50 mL  |
| N° 3    | 40 mL  |
| N° 4    | 4 mL   |

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Spectrophotometer or colorimeter, water-bath at 37°C, watch and stopwatch, pipettes, test tubes, monolog or millimeter paper, Biocontrol N and Biocontrol P Bioclin. The instruments and glassware can be found in the specialized market of clinical analysis laboratories.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The storage temperature should be between 2 and 8°C. The transport at temperature between 15 and 30°C should not exceed 72 (seventy two) hours. Protect from light and avoid moisture. **Do not freeze.**

SPECIAL CARE

- 1- For professional *in vitro* diagnostic use only.
- 2- Strictly follow the methodology proposed to obtain exact results.
- 3- Water used in material cleaning must be recent and free of contaminants.

4- Although the Substrate contain preservative, should avoid bacterial contamination.

5- Handle the Reagents N° 1 and N° 4 carefully, they contain Sodium Azide, irritating to skin and mucous membrane.

6- The Reagent N° 3 is caustic; avoid the skin contact. The Reagent N° 2 contain acid and shall be handle with care, because it is irritating to skin and mucous membrane, causing minor burns.

7- We recommend applying the local, state and federal rules for environmental protection, so that disposal of reagents and biological material can be made in accordance with current legislation.

8- To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the MSDS (Material Safety Data Sheet) available on the website [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) or upon request by the SAC (Advisory Service Customer) of Quibasa.

9- Do not use the product in case of damaged packaging.

10- It is essential that the instruments and equipments used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

SAMPLE

Serum or plasma with EDTA or heparin, obtained free of hemolysis. The sample is stable for 3 days between 2 and 8°C, and 3 months at -20°C °.

PROCESS DESCRIPTION

USAGE SODIUM HYDROXIDE PREPARATION (0,4 N)

Transfer quantitatively the contend of flask N° 3 (40 mL) for a volumetric balloon of 500 mL and complete until the mark with distilled or deionized water free of CO<sub>2</sub>. Homogenize well and store in plastic flask. Stable in temperatures between 15 and 30°C, until the validity of the product printed on the label.

CALIBRATION CURVE

Do not use the factor method for ALT dosages, because the absorbencies are not directly proportional to the enzymatic activity. Prepare with great accuracy the calibration curve described below.

| Tube | Standard | ALT Substrate | Distilled Water | ALT 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      |

Add to each tube 1,0 mL of Color Reagent N° 2, homogenize and let it rest for 20 minutes at environment temperature. Optionally, this time can be reduced to 5 minutes, incubating in water-bath at 56°C. Add 10,0 mL of Usage Sodium Hydroxide (0,4 N). Homogenize and let it rest for 5 minutes. The color remains stable for 60 minutes. Determine the absorbencies or transmittances at 505 nm (490 - 540 nm), matching the zero with distilled or deionized water. Trace the calibration curve, placing in orderly absorbance values (millimeter paper) or transmittance (monolog paper), and in abscissa, the values in U/mL.

TECHNIQUE

Bioclin recommends, as control serum, Biocontrol N and P Bioclin kits.

Mark the test tubes for the ALT dosage and proceed as follows:

|                                                                                                |        |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
|                                                                                                | ALT    |
| Reagent N° 1                                                                                   | 250 µL |
| Incubate at 37°C per 3 minutes                                                                 |        |
| Sample                                                                                         | 50 µL  |
| Homogeneize and incubate at 37°C per 30 minutes                                                |        |
| Reagent N° 2                                                                                   | 250 µL |
| Homogeneize and let it rest per 20 minutes in environment temperature or per 5 minutes at 56°C |        |
| Usage Sodium Hydroxide                                                                         | 2,5 mL |

Homogenized by inversion and let it rest per 5 minutes in environment temperature. Transfer to the cuvettes and measure the absorbance or transmittance in 505 nm (490 - 540 nm), matching the zero with distilled or deionized water. The color is stable per 30 minutes. Calculate the ALT values through the calibration curve.

PROCEDURE LIMITATIONS

Test periodically the calibration to detect any change in response of the spectrophotometer or from the colorimeter.

INTERNAL QUALITY CONTROL

The Clinical Laboratory must have an internal quality control, where all procedures, rules, limits and tolerance to variations be clearly established. It is important to mention that all measurement systems present a analytical variety, and it must be monitor by the laboratory. Therefore, it is recommendable the use of controls, allowing the precision and accuracy of the dosages.

TRACEABILITY

The kit's standard is traceable to the reference material ERM-AD454.

REFERENCE VALUES

The reference values in U/mL for this method were obtained through the determination of ALT in healthy populations of male and female.

ALT.....4 to 32 U/mL

To convert the values of U/mL to international units (UI), multiply by 0,482.

These values should be used as guidelines, each laboratory should establish its range of reference values, according to the population served.

The results provided by this kit must be interpreted by the medical professional responsible, not being the only criterion for the determination of diagnosis and/or treatment of the patient.

PRODUCT PERFORMANCE  
QUALITY CONTROL

Accuracy  
RECOVERY

The Transaminase ALT kit recovery analysis was made with 5 samples determinations. The accuracies were calculated and if found in good concordance with the reference values, obtaining a recovery between 95 and 105%.

COMPARISON OF METHODS AND METHODOLOGICAL SPECIFICITY

The Transaminase ALT kit was compared with other commercially available methods for measurement of LT. 07 analyzes were performed and the results were evaluated. The linear equation obtained was  $Y = 0,993X + 0,707$  and the correlation coefficient 0,999. With these results, we can conclude that the kit presents good methodological specificity.

Precision  
REPEATABILITY

The repeatability was calculated from 20 successive determinations, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

|                              | Sample 1 | Sample 2 | Sample 3 |
|------------------------------|----------|----------|----------|
| Average Concentration (U/mL) | 14,45    | 23,10    | 35,40    |
| Standard Deviation (U/mL)    | 0,51     | 0,79     | 0,94     |
| Coefficient of Variation (%) | 3,53     | 3,41     | 2,66     |

REPRODUCIBILITY

The reproducibility was calculated from 20 successive determinations for 3 consecutive days, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

|                              | Sample 1 | Sample 2 | Sample 3 |
|------------------------------|----------|----------|----------|
| Average Concentration (U/mL) | 14,50    | 23,35    | 35,17    |
| Standard Deviation (U/mL)    | 0,05     | 0,23     | 0,21     |
| Coefficient of Variation (%) | 0,34     | 0,98     | 0,59     |

Sensitivity

The sensitivity was calculated from 20 determinations of a sample free of ALT. The average found was 3,389 U/mL, with standard deviation of 0,012 U/mL. The sensitivity, which indicates the method detection limit, corresponds the average plus 3 times the standard deviation, and is equal to 3,424 U/mL.

Linearity

This reaction is linear up to the concentration of 140 U/L. For samples with values higher than 140 U/L it is recommended to dilute the sample with Sodium Chloride 0,85%, repeat the dosage and multiply the results obtained by the dilution factor.

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

The increase activity of the Alanine Amino Transferase - ALT (of cytoplasmic origin) reflect the changes of several tissues. The higher activity of this enzyme is located in the hepatic tissue. Lower activities occur in the skeletal muscle, heart, kidney and pancreas. Its activity is increased in viral and toxic hepatitis

(30 - 50 or 100 times the RV) as well as other hepatic diseases (HD), associated to hepatic necrosis. In the chronic HD, associated to cell necrosis, due the increase of the AST liberation (mitochondrial), can occur the inverted relation ALT/AST. Still, the increase of its levels in infecting mononucleosis, in intra cholestasis and extra-hepatics.

NUMBER OF TESTS

200 Tests / 50 µL of Sample / 3 mL of Reagent.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

- 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.
- 6 - WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.

QUALITY ASSURANCE

Before being released for consumption, all **Bioclin** reagents are tested by the Department of Quality Control. The quality of reagents is assured until expiration date stated on the presentation packaging, when stored and transported under appropriate conditions.



QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Phone: +55 (31) 3439.5454 - Fax: +55 (31) 3439.5455  
E-mail: bioclin@bioclin.com.br  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Made in Brazil



OBELIS S.A.

Bd. Général Wahis, 53  
1030 Brussels, Belgium

CUSTOMER SERVICE

Customer Advisory Service  
Phone: 0800 0315454  
E-mail: sac@bioclin.com.br

ANVISA registration for the Transaminase ALT kit: 10269360140

Review: March/2019

UNIVERSAL SYMBOLOGY



CATALOG NUMBER



MANUFACTURED BY



BATCH CODE



CONTROL



DATE OF MANUFACTURE



POSITIVE CONTROL



USED BY  
(last day of month)



NEGATIVE CONTROL



TEMPERATURE LIMITATION  
(store at)



BIOLOGICAL RISK



CONTAINS SUFFICIENT  
FOR <N> TESTS



INFLAMMABLE



CONSULT INSTRUCTIONS  
FOR USE



CORROSIVE



IN VITRO DIAGNOSTIC DEVICE



POISON



EUROPEAN AUTHORIZED  
REPRESENTATIVE



CE MARK



KEEP AWAY  
FROM SUNLIGHT



DO NOT USE IF  
PACKAGE IS  
DAMAGED