



γ -Glutamyl Transferase

Finalidade

Método (Szasz modificado) para a determinação de γ -glutamyl transferase em soro ou plasma. Substrato recomendado pela IFCC.

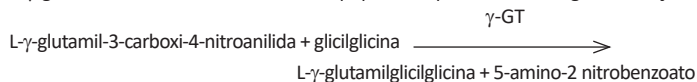
Significado clínico

A γ -glutamyl transferase (γ -GT) é uma enzima de membrana amplamente distribuída no organismo. Localiza-se principalmente nos rins, vesículas seminais, pâncreas, fígado, baço e cérebro. Sua atividade é influenciada por qualquer fator que afete as membranas celulares dos órgãos que a contém.

Caso de alterações hepáticas, a γ -GT geralmente é um índice para agressão tóxica. No entanto, sua determinação só tem valor clínico quando seus valores são comparados com aqueles de outras enzimas de maior órgão-especificidade. A análise de γ -GT juntamente com a fosfatase alcalina, transaminases e bilirrubina aumenta significativamente o panorama do diagnóstico diferencial das doenças hepáticas primárias e secundárias, sendo parte do hepatograma.

Fundamentos do método

A γ -glutamyl transferase é uma carboxipeptidase que catalisa a seguinte reação:



Reagentes fornecidos

Reagente A: solução de tampão Tris contendo glicilglicina.

Reagente B: solução de L- γ -glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida.

Concentrações finais

tampão Tris..... 100 mmol/L; pH 8,25

L- γ -glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida 23 mmol/L

Reagentes não fornecidos

Solução fisiológica (NaCl 9 g/L).

Instruções para uso

Reagentes Fornecidos: prontos para uso. Podem ser utilizados separados ou como Reagente único misturando 4 partes de Reagente A com 1 parte de Reagente B (ex. 4 mL Reagente A + 1 mL Reagente B).

Precauções

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme a regulação local vigente.

Estabilidade e instruções de armazenamento

Reagentes Fornecidos: são estáveis sob refrigeração (2-8°C) até a data de vencimento indicada na embalagem.

Reagente único (pré-misturado): é estável por 4 semanas sob refrigeração (2-8°C) protegido da luz.

Indícios de instabilidade ou deterioração dos reagentes

Quando o espectrofotômetro foi zerado com água destilada, leituras de absorbância do Reagente único superiores a 1300 D.O. são indício de deterioração.

Amostra

Soro ou plasma

a) Coleta: deve ser coletada de modo usual.

b) Aditivos: se a amostra a utilizar for plasma, recomenda-se, para sua obtenção, o uso de EDTA como anticoagulante.

c) Estabilidade e instruções de armazenamento: a γ -GT no soro é estável por até 2 semanas sob refrigeração (2-8°C), e até 6 meses congelada (-20°C).

Interferências

Não são observadas interferências por bilirrubina até 280 mg/L (28 mg/dL), triglicerídeos até 540 mg/dL (5,4 g/L), nem hemoglobina até 0,39 g/dL (390 mg/dL). Referência bibliográfica Young à efeitos de drogas neste método.

Material necessário (não fornecido)

- Espectrofotômetro.

- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.

- Cubetas espectrofotométricas de faces paralelas.

- Banho-maria à temperatura de reação selecionada.

- Cronômetro.

Condições de reação

- Comprimento de onda: 405 nm

- Temperatura de reação: 25, 30 ou 37°C

- Tempo de reação: 3 minutos

- Volume de amostra: 100 μ L

- Volume de Reagente único: 1 mL

- Volume final de reação: 1,1 mL

Procedimento

Em uma cubeta mantida à temperatura selecionada, colocar:

Reagente único	1 mL
Pré-incubar por alguns minutos. Adicionar a seguir:	
Amostra	100 μ L

Misturar rapidamente e prosseguir de imediato a incubação disparando simultaneamente o cronômetro. Registrar a absorbância a 1, 2 e 3 minutos.

Determinar a diferença média de absorbância ($\Delta A/\text{min}$) subtraindo cada leitura da anterior e tirando a média dos valores. Utilizar esta média para os cálculos.

Cálculos dos resultados

γ -glutamyl transferase (U/L) = $\Delta A/\text{min} \times 1,158$

Exemplo:

(Os dados apresentados a seguir são ilustrativos)

	Amostra	Diferença	Média
Absorbância A1	0,247		
Absorbância A2	0,274	0,027	
Absorbância A3	0,299	0,025	
Absorbância A4	0,325	0,026	0,026

Utilizando Fator teórico (37°C):

γ -glutamyl transferase (U/L) = $0,026 \times 1158 = 30,1$ U/L

Quando utilizado Laborcal como calibrador:

Concentração de γ -GT no calibrador: 117 U/L (37°C)

	Calibrador	Diferença	Média
Absorbância A1	0,141		
Absorbância A2	0,242	0,101	
Absorbância A3	0,341	0,099	
Absorbância A4	0,441	0,100	0,100

Obtenção do fator de calibração:

$$\text{Fator} = \frac{[\gamma\text{-GT}_{\text{calibrador}}]}{\Delta A/\text{min}_{\text{calibrador}}} = \frac{117 \text{ U/L}}{0,100} = 1170$$

γ -glutamyl transferase (U/L) = $\Delta A/\text{min}_{\text{Amostra}} \times \text{Fator} = 0,026 \times 1170 = 30,4$ U/L

Conversão de unidades ao sistema SI

γ -GT (U/L) $\times 0,017 = \gamma$ -GT (ukat/L)

Método de controle de qualidade

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Laborcontrol 1** e **Laborcontrol 2** da Laborlab) com atividades conhecidas de γ -glutamyl transferase, com cada determinação.

Valores de referência

Temperatura	25°C	30°C*	37°C*
Homens	6-28 U/L	8-38 U/L	11-50 U/L
Mulheres	4-18 U/L	5-25 U/L	7-32 U/L

(*) Calculados

Limitações do procedimento
Vide “Interferências”.

Desempenho

a) **Reprodutibilidade:** aplicando o protocolo EP-15A do CLSI, se analisaram dois níveis de atividade, cada um por quadruplicado durante 5 dias. Com os dados obtidos, calcularam-se as precisões intra-ensaio e total.

Precisão intra-ensaio (n = 20)

Nível	D.P.	C.V.
37,0 U/L	± 0,45 U/L	1,21 %
160,8 U/L	± 0,90 U/L	0,56 %

Precisão total (n = 20)

Nível	D.P.	C.V.
37,0 U/L	± 1,10 U/L	2,98 %
160,8 U/L	± 3,69 U/L	2,29 %

b) **Linearidade:** manualmente, a reação é linear até um ΔA/min de 0,200 (250 U/L). Para valores superiores, diluir a amostra 1/5 ou 1/10 com solução fisiológica e repetir a determinação, respeitando as mesmas condições de ensaio e multiplicando os resultados pela diluição efetuada. Em analisadores automáticos pode-se observar uma linearidade até 1200 U/L.

c) **Sensibilidade analítica:** depende do fotômetro empregado e do comprimento de onda. Em espectrofotômetros com cubetas de fases paralelas de 1 cm de espessura, para um ΔA/min de 0,001 a mudança mínima de atividade detectável será de 1 U/L.

Parâmetros para analisadores automáticos

Para a programação, consultar o manual de uso do analisador a ser utilizado.

Apresentação

1 x 48 mL **Reagente A**
1 x 12 mL **Reagente B**
(Cód. 1770120)

1 x 48 mL **Reagente A**
1 x 12 mL **Reagente B**
(Cód. 1779715)

Referências

- Lum, G.; Gambino, S.R. - Clin. Chem. 18:358 (1972).
- Burrows, S.; Feldman, W.; McBride, F. - Am. J. Clin. Path. 64/3:311 (1975).
- Szasz, G. - Clin. Chem. 15/2:124 (1969).
- S.S.C.C. - Scand. J. Clin. Lab. Invest. 36:119 (1976).
- Szasz G.; Weinmann G.; Staler F.; Wahlefeld W.; Persijn J. - Z. Klin. Chem. Biochem. 12:229 (1974).
- I.F.C.C. - J. Clin Chem. Clin. Biochem. 21: 633 (1983).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocols EP-15A, 2001 / EP-17A, 2004

Termo de garantia

Este Kit como um todo tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Departamento Técnico da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda. que não houve falhas técnicas na execução e manuseio deste kit, assim como em sua conservação.

SÍMBOLOS



Este produto preenche os requisitos da Diretiva Européia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado na Comunidade Européia



Uso médico-diagnóstico "in vitro"



Conteúdo suficiente para <n> testes



Data de validade



Limite de temperatura (conservar a)



Não congelar



Risco biológico



Volume após da reconstituição



Conteúdo



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caústico



Irritante



Irritante



Consultar as instruções de uso



Calibrador



Controle



Controle Positivo



Controle Negativo



Número de catálogo



γ -Glutamyl Transferase

Fin y uso

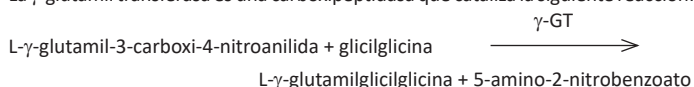
Método (Szasz modificado) para la determinación de γ -glutamyl transferasa en suero o plasma. Sustrato recomendado por la IFCC.

Significación clínica

La γ -glutamyl transferasa (γ -GT) es una enzima de membrana ampliamente distribuida en el organismo. Se localiza principalmente en riñón, vesículas seminales, páncreas, hígado, bazo y cerebro. Su actividad es influenciada por cualquier factor que afecte a las membranas celulares de los órganos que la contienen. En el caso de alteraciones hepáticas, la γ -GT generalmente es índice de agresión tóxica. Sin embargo, la determinación sólo tiene valor clínico cuando sus valores son comparados con los de otras enzimas de mayor órgano-especificidad. El análisis conjunto de γ -GT, fosfatasa alcalina, transaminasas y bilirrubina, amplía significativamente el panorama del diagnóstico diferencial de las enfermedades hepáticas primarias y secundarias, formando parte del hepatograma.

Fundamentos del método

La γ -glutamyl transferasa es una carboxipeptidasa que cataliza la siguiente reacción:



Reactivos provistos

A. Reactivo A: solución de buffer Tris conteniendo glicilglicina.

B. Reactivo B: solución de L- γ -glutamyl-3-carboxi-4-nitro-anilida.

Concentraciones finales

buffer Tris 138 mmol/l; pH 8,5

L- γ -glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida 23 mmol/l

Reactivos no provistos

Solución fisiológica (NaCl 9 g/l).

Instrucciones para su uso

Reactivos Provistos: listos para usar. Estos pueden usarse separados o como **Reactivo único**, mezclando 4 partes de Reactivo A con 1 parte de Reactivo B (ej.: 4 ml Reactivo A + 1 ml Reactivo B).

Precauciones

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

Estabilidad e instrucciones de almacenamiento

Reactivos Provistos: son estables en refrigerador (2-8°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Reactivo único (premezclado): estable 4 semanas en refrigerador (2-8°C). Proteger de la luz.

Indicios de inestabilidad o deterioro de los reactivos

Cuando el espectrofotómetro ha sido llevado a cero con agua destilada, lecturas de absorbancia del Reactivo único superiores a 1,300 D.O. son indicio de deterioro del mismo.

Muestra

Suero o plasma

a) Recolección: se debe obtener de la manera usual.

b) Aditivos: en caso de emplear plasma, se recomienda el uso de EDTA como anticoagulante para su obtención.

c) Sustancias interferentes conocidas:

No se observan interferencias por bilirrubina hasta 280 mg/l (28 mg/dl), triglicéridos hasta 5,4 g/l (540 mg/dl) ni hemoglobina hasta 0,39 g/dl (390 mg/dl). Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la γ -GT en suero es estable hasta 2 semanas en refrigerador (2-8°C) y hasta 6 meses congelada (-20°C).

Material requerido (no provisto)

- Espectrofotómetro.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Cubetas espectrofotométricas de caras paralelas.

- Baño de agua a la temperatura de reacción seleccionada.
- Cronómetro.

Condiciones de reacción

- Longitud de onda: 405 nm
- Temperatura de reacción: 25, 30 ó 37°C
- Tiempo de reacción: 3 minutos
- Volumen de muestra: 100 μ l
- Volumen de Reactivo único: 1 ml
- Volumen final de reacción: 1,1 ml

Procedimiento

En una cubeta mantenida a la temperatura seleccionada colocar:

Reactivo único	1 ml
----------------	------

Preincubar unos minutos. Luego agregar:

Muestra	100 μ l
---------	-------------

Mezclar rápidamente y proseguir de inmediato la incubación disparando simultáneamente el cronómetro. Registrar la absorbancia a los 1, 2 y 3 minutos. Determinar la diferencia promedio de absorbancia ($\Delta A/\text{min}$) restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

γ -glutamyl transferasa (U/l) = $\Delta A/\text{min} \times 1.158$

Ejemplo:

(Los datos presentados a continuación son ilustrativos)

	Muestra	Diferencia	Promedio
Absorbancia A1	0,247		
Absorbancia A2	0,274	0,027	
Absorbancia A3	0,299	0,025	
Absorbancia A4	0,325	0,026	0,026

Utilizando Factor teórico (37°C):

γ -glutamyl transferasa (U/l) = $0,026 \times 1158 = 30,1$ U/l

Si se utiliza Laborcal como calibrador:

Concentración de γ -GT en el calibrador: 117 U/L (37°C)

	Calibrador	Diferencia	Promedio
Absorbancia A1	0,141		
Absorbancia A2	0,242	0,101	
Absorbancia A3	0,341	0,099	
Absorbancia A4	0,441	0,100	0,100

Obtención del factor de calibración:

$$\text{Factor} = \frac{[\gamma\text{-GT}_{\text{calibrador}}]}{\Delta A/\text{min}_{\text{calibrador}}} = \frac{117 \text{ U/l}}{0,100} = 1170$$

γ -glutamyl transferasa (U/l) = $\Delta A/\text{min}_{\text{Muestra}} \times \text{Factor} = 0,026 \times 1170 = 30,4$ U/L

Conversión de unidades al sistema SI

γ -GT (U/l) $\times 0,017 = \gamma$ -GT (ukat/l)

Método de control de calidad

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Laborcontrol 1** y **Laborcontrol 2** de Laborlab) con actividades conocidas de γ -glutamyl transferasa, con cada determinación.

Valores de referencia

	25°C	30°C ^(*)	37°C ^(*)
Hombres	6-28 U/l	8-38 U/l	11-50 U/l
Mujeres	4-18 U/l	5-25 U/l	7-32 U/l

^(*)Calculados

Limitaciones del procedimiento

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

Performance

a) Reproducibilidad: se aplicó el protocolo EP-15A del CLSI. Se analizaron dos niveles de actividad, cada uno por cuadruplicado durante 5 días. Con los datos obtenidos, se calcularon las precisiones intraensayo y total.

Precisión intraensayo (n = 20)

Nivel	D.S.	C.V.
37,0 U/l	± 0,45 U/l	1,21 %
160,8 U/l	± 0,90 U/l	0,56 %

Precisión total (n = 20)

Nivel	D.S.	C.V.
37,0 U/l	± 1,10 U/l	2,98 %
160,8 U/l	± 3,69 U/l	2,29 %

c) Linealidad: manualmente, la reacción es lineal hasta un $\Delta A/\text{min}$ de 0.200 D.O. (250 U/l). Para valores superiores, diluir la muestra 1/5 ó 1/10 con solución fisiológica y repetir la determinación, respetando las mismas condiciones de ensayo y multiplicando los resultados por la dilución efectuada. En analizadores automáticos puede observarse una linealidad hasta 1200 U/l.

d) Sensibilidad analítica: depende del fotómetro empleado y de la longitud de onda. En espectrofotómetros con cubetas de caras paralelas de 1 cm de espesor, para un $\Delta A/\text{min}$ de 0,001 el mínimo cambio de actividad detectable será 1 U/l.

Parámetros para analizadores automáticos

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso.

Presentación

1 x 48 mL **Reactivo A**
1 x 12 mL **Reactivo B**
(Cód. 1770120)

1 x 48 mL **Reactivo A**
1 x 12 mL **Reactivo B**
(Cód. 1779715)

Bibliografía

- Lum, G.; Gambino, S.R. - Clin. Chem. 18:358 (1972).
- Burrows, S.; Feldman, W.; McBride, F. - Am. J. Clin. Path. 64/3:311 (1975).
- Szasz, G. - Clin. Chem. 15/2:124 (1969).
- S.S.C.C. - Scand. J. Clin. Lab. Invest. 36:119 (1976).
- Szasz G.; Weinmann G.; Staler F.; Wahlefeld W.; Persijn J. - Z. Klin. Chem. Biochem. 12:229 (1974).
- I.F.C.C. - J. Clin Chem. Clin. Biochem. 21: 633 (1983).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCPress, 5th ed., 2000.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocols EP-15A, 2001 / EP-17A, 2004.

SIMBOLOS



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Cáustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control



Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo



Produtos para Laboratórios Ltda.
Estrada do Capão Bonito, 489
Guarulhos - SP- Brasil - CEP: 07263-010
CNPJ: 72.807.043/0001-94
Atendimento ao cliente:
+55 (11) 2480 0529/+55 (11) 2499 1277
sac@laborlab.com.br
www.laborlab.com.br