

Utilização prevista

Para a determinação cinética quantitativa da atividade de gama-glutamyltransferase (GGT) no soro utilizando os analisadores Yumizen C230 e Yumizen C240.

Rx Only:

Relevância clínica

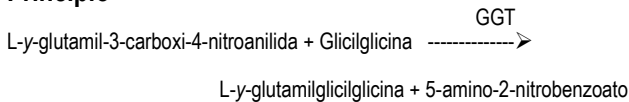
As medições de GGT são utilizadas para o diagnóstico e tratamento de doenças hepáticas, como cirrose alcoólica e tumores primário e secundário. Os níveis elevados de GGT aparecem mais precocemente e são mais pronunciados do que os de outras enzimas hepáticas, em casos de icterícia obstrutiva e neoplasias metastáticas.¹

Resumo do teste

Os métodos para determinar a GGT baseiam-se na utilização de derivados glutamílicos de aminas aromáticas como material de substrato.² Orlowski e Meiser introduziram

a γ -glutamyl-p-nitroanilida como substrato em 1963³, enquanto Kulhanek e Dimov (1966) adicionaram a glicilglicina e aumentaram significativamente a velocidade da reação.⁴ Em 1969, Szasz publicou um procedimento cinético para GGT⁵ em cujo princípio se baseia o presente procedimento. Szasz e Persijn⁶ divulgaram mais tarde que o derivado de 3-carboxilo, L- γ -glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida (GLUPA-C) poderia substituir a L- γ -glutamyl-p-nitroanilida, produzindo um reagente mais estável. O reagente de GGT Líquido Pointe utiliza este derivado solúvel de 3-carboxilo.

Princípio



A GGT na amostra catalisa a transferência do grupo glutamyl de GLUPA-C para glicilglicina de acordo com a reação acima descrita. A quantidade de 5-amino-2-nitrobenzoato que é formado é proporcional à atividade da GGT e pode ser medida cineticamente a 405 nm.

Composição do reagente

Além de um estabilizador, o reagente R1 e R2 combinado contém:

Tampão Tris	<89 mmol/L
Glicilglicina	<126 mmol/L
GLUPA-C	4,0 mmol/L
Azida de sódio	0,095%

Preparação dos reagentes

Os reagentes são fornecidos sob a forma de líquidos prontos a utilizar.

Armazenamento e estabilidade dos reagentes

Armazene os reagentes a 2-8°C. Os reagentes mantêm-se estáveis até à data de validade, quando armazenados conforme as instruções.

NOTA: O reagente R2 é sensível à temperatura e pode ser afetado pela exposição prolongada à temperatura ambiente. Coloque novamente o reagente a 2-8°C o mais rapidamente possível após a utilização.

Precauções

- Este reagente destina-se apenas a diagnóstico *in vitro*.
- Não utilize o reagente se a absorvância inicial do reagente de trabalho for superior a 0,800 quando medida a 405 nm em relação à água ou se o reagente não cumprir os parâmetros de desempenho indicados.
- Não utilize a pipeta com a boca. Evite a ingestão e o contacto com a pele, uma vez que a toxicidade não foi estabelecida.
- Os reagentes deste kit contêm azida de sódio como conservante. A azida de sódio pode formar compostos explosivos em linhas de drenagem de metal. Ao eliminar reagentes através da canalização, escoe com água abundante. Para mais informações, consulte "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts." no Manual Guide-Safety Management N.º CSC-22 publicado pelo Centers for Disease Control, Atlanta, Georgia.

Colheita e armazenamento de amostras

- Utilize apenas soro. A atividade da GGT é inibida pela maioria dos anticoagulantes.
- Recomenda-se que a colheita de amostras seja realizada de acordo com o documento NCCLS M29-T2. Nenhum método pode oferecer garantias absolutas de que as amostras de sangue humano não

transmitirão infeções. Por conseguinte, todas as amostras de sangue devem ser consideradas potencialmente infecciosas.

- A GGT sérica mantém-se estável no soro até sete dias quando armazenada a 2-25°C, até um mês quando armazenada a 4°C e até um ano a (-20°C) e protegida contra evaporação.⁷
- Todas as amostras e controlos devem ser manuseados de acordo com as boas práticas laboratoriais, utilizando as precauções adequadas conforme descrito no Manual da CDC/NIH, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 2.ª Ed., 1988, N.º de publicação do HHS (CDC) 88-8395.

Interferências

- A maioria dos anticoagulantes utilizados nos tubos de colheita de sangue inibem a atividade da GGT.⁸
- Os medicamentos antiepiléticos (fenitoína e barbitúricos) podem elevar erradamente os níveis de GGT.^{9,10}
- Verificou-se que a bilirrubina até ao nível de 20 mg/dL apresenta uma interferência negligenciável (<5%) neste ensaio.
- Verificou-se que a hemoglobina a partir de 100-500 mg/dL mostra uma depressão mínima (aproximadamente 5-7%) das atividades da GGT recuperadas.
NOTA: O nível de GGT foi de 45 U/L no estudo de bilirrubina e de 48 U/L no estudo de hemoglobina.
- Para obter uma lista exaustiva das interferências de medicamentos, consulte Young, et al.¹¹

Materiais fornecidos

Reagentes de GGT (R1 e R2)

Materiais necessários, mas não fornecidos

- Analisador Yumizen C230/Yumizen C240
- Manual de utilização do Yumizen C230/Yumizen C240
- Controlo de química, número de catálogo C7592-100

Parâmetros de teste

Teste:	GGT	Química:	Glutamyltransferase
N.º de química:	217	Nome em letra de imprensa:	GGT
Tipo de reação:	Cinética	Direção de reação:	Positiva
Onda pri.:	405 nm	Onda sec.:	670 nm
Decimal.:	0	Tipo de amostra:	Soro
Tempo de branco:		Tempo de reação:	3 11
Unidade:	U/L	Tempo de incubação:	3

	Vol. de amostra	Aspirado	Diluído	Vol. de reagente	Diluído
Padrão;	9	uL	uL	R1: 180	uL
Diminuído;		uL	uL	R2: 45	uL
Aumentado;		uL	uL		

Intervalo de linearidade (padrão):	0-800	Limite de linearidade:	0.3
Intervalo de linearidade (diminuído):		Redução de substrato:	25000
Intervalo de linearidade (aumentado):		Abs. de branco misturado:	- 40000 40000
Abs. de branco R1:	- 40000 40000	Estabilidade no equipamento:	30
Resposta de branco	- 40000 40000	Limite de alarme do reagente:	5
Química dupla:			

Verificação prozona:		
Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Utilizar resultado qualitativo:		
Intervalo:		Referência:

Conjunto de Reagentes de GGT (γ -glutamyltransferase) Pointe

Desvio de declive:	Declive 1	Desvio 0	Unidade U/L
--------------------	--------------	-------------	----------------

Pré-tratamento:			
Vol. de amostra pré-tratada:	uL	Vol. de reagente pré-tratado:	uL

Intervalo de ref.:			
Tipo de amostra:	Sexo:	Intervalo de idades:	Intervalo de ref.: Intervalo crítico: Unidade:

Parâmetros de configuração da calibração

Quím:	GGT		
Definição da calibração	Calibrador	Conc.	Pos
Modelo matemático: Fator K	Água	0,0	W
Fator: 2642,000 Réplicas: 2			
Limites de aceitação			
Tempo cal: 24 h			
Dif declive: DP:			
Sensibilidade: Repetibilidade:			* Definida pelo utilizador
Deter coef:			
Calib. auto.			
	<input type="checkbox"/> Tempo cal		

Limitações

As amostras que excedem o limite de linearidade (800 U/L) devem ser diluídas com um volume igual de solução salina, novamente submetidas a ensaio e os resultados finais devem ser multiplicados por dois.

Calibração

O procedimento é calibrado através da capacidade de absorção milimolar do 5-amino-2-nitrobenzoato, que é de 9,5 a 405 nm nas condições especificadas. Os resultados baseiam-se na alteração da absorvância por minuto. Todos os parâmetros devem ser conhecidos e controlados.

Cálculo (exemplo)

A atividade da GGT é expressa em unidades/litro. A 37°C, uma Unidade (U/L) é definida como a quantidade de enzima que catalisa a transformação de um micromole de substrato por minuto em condições definidas.

$$\frac{\Delta \text{ Abs/min} \times \text{VT} \times 1000}{\text{AMM} \times \text{VA} \times \text{TL}} = \text{U/L GGT na amostra}$$

$\Delta \text{ Abs/min}$Alteração da absorvância por minuto
 VTVolume total do ensaio (1,100 mL).
 1000Conversão de mL em L.
 AMMCapacidade de absorção milimolar do 5-amino-2-nitrobenzoato (9,5).
 VAVolume de amostra (0,100 mL).
 TLTrajeto de luz (1 cm).

$$\frac{\Delta \text{ Abs/min} \times 1,100 \times 1000}{9,5 \times 0,100 \times 1,0} = \Delta \text{ Abs/min} \times 1158$$

Então: $\Delta \text{ Abs/min} \times 1158 = \text{U/L de desconhecido}$
 Exemplo: Se $\Delta \text{ Abs/min} = 0,06$, então $0,06 \times 1158 = 69 \text{ U/L}$

Nota: Se qualquer um dos parâmetros acima sofrer alterações, é necessário recalcular um novo fator.

Controlo da qualidade

A validade da reação deve ser monitorizada utilizando soros de controlo com valores de GGT normais e anormais conhecidos. Estes controlos devem ser efetuados, pelo menos, em cada turno de trabalho em que sejam realizados ensaios de GGT. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça a sua própria frequência de determinação de controlo. Os requisitos de controlo de qualidade devem ser executados em conformidade com os requisitos de acreditação e regulamentação local, estatal e/ou federal.

Valores esperados¹²

Sexo masculino: 8-37 U/L a 30°C, 9-54 U/L a 37°C
 Sexo feminino: 6-24 U/L a 30°C, 8-35 U/L a 37°C

Devido a uma ampla variedade de condições (alimentares, geográficas, idade, etc.) que afetam os intervalos normais, recomenda-se vivamente que cada laboratório determine o seu próprio intervalo de referência.

Desempenho

- Linearidade: 0-800 U/L. As amostras que excedem 800 U/L devem ser diluídas com um volume igual de solução salina e novamente submetidas a ensaio. Multiplique o resultado por dois.
- Comparação: Foi realizado um estudo entre o analisador da série Yumizen 200 e um analisador e método semelhantes, tendo resultado num coeficiente de correlação de 0,998 e uma equação de regressão de $y=1,02x+4,8$.
- Precisão: Foram realizados estudos de precisão na sequência da modificação das diretrizes constantes do documento NCCLS EP5-T2.¹³

Na mesma determinação			Entre dias		
Média	D.P.	% C.V.	Média	D.P.	% C.V.
25,4	0,70	2,6	28,9	1,1	3,8
71,7	0,90	1,2	76,8	2,4	3,1

- Sensibilidade: A sensibilidade do reagente de GGT líquido foi investigada através da leitura das alterações na absorvância para uma amostra de solução salina e amostras de soro com concentrações conhecidas. Foram realizadas dez réplicas de cada amostra. Os resultados desta investigação indicaram que, no analisador utilizado, o reagente de GGT líquido exibiu pouco ou nenhum desvio de reagente numa amostra zero. Nas condições de reação descritas, 1 U/L resulta num movimento de absorvância de 0,0003.

Bibliografia

- Tietz, N.W., editor, Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd Ed., W.B. Saunders Co., 391 (1987).
- Demetriou, J.A., Drewes, P.A., Gin, J.B., Clinical Chemistry: Principles and Technics, 2nd Ed., Hagerstown (MD), Harper Row, pp 872-873 (1974).
- Orlowski, M., Meister, A., Biochem, Biophys. Acta 73:679 (1963).
- Kulhanek, V., Dimov, D.M., Clin. Chem. Acta 14:619 (1966).
- Szasz, G., Clin. Chem. 15:124 (1969).
- Szasz, G., Persijn, J.P., et al, A Klin. Chem. Klin. Biochem. 12:228 (1974).
- Zern, M., and Discombe, G., Lancet 2:748 (1971).
- Wolf, P.L., et al, Practical Clinical Enzymology and Biochemical Profiling, New York, Wiley-Interscience p.37 (1973).
- Rosalki, S.B., et al, Lancet 2:376 (1971).
- Whitfield, J.B., et al, Gut 13:702(1972).
- Young, D.S., et al, Clin. Chem. 21:1D (1975).
- Kaplan, L.A., Pesce, A.J. Clinical Chemistry, 2nd Ed., St. Louis, C.V. Mosby Company, (1992).
- NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

Legenda dos símbolos

Utilizar até (AAAA-MM-DD)	Lote e código
Número de catálogo	Fabricante
Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	Limite de temperatura
Consulte as instruções de utilização	Rx Only: Utilização apenas mediante receita médica
Marcação CE	Representante autorizado na Comunidade Europeia

12-G7571-100 Fabricado por HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand 5449 Research Drive Canton, MI 48188

Fabricado por HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
 5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Representante Europeu Autorizado:
 Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53
 1030 Brussels, BÉLGICA

Tel.: (32)2.732.59.54 Fax: (32)2.732.60.03 e-mail: mail@obelis.net

Certificada para executar reagentes

Os reagentes Pointe são certificados para serem fabricados de acordo com parâmetros especificados. Qualquer produto de reagente Pointe que não cumpra as especificações até à data de validade indicada será regularizado imediatamente sem quaisquer custos.