

Uso previsto

Para la determinación cinética cuantitativa de la actividad de gamma glutamil transferasa (GGT) en suero, utilizando los analizadores Yumizen C230 y Yumizen C240.

Rx Only.

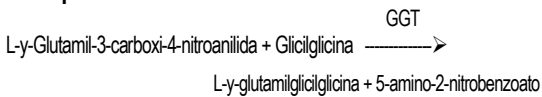
Importancia clínica

Las mediciones de GGT se utilizan en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades hepáticas como la cirrosis alcohólica y los tumores primarios y secundarios. Los niveles elevados de GGT aparecen antes y son más pronunciados que los de otras enzimas hepáticas, en casos de ictericia obstructiva y neoplasias metastásicas.¹

Resumen de la prueba

Los métodos para determinar la GGT se basan en el uso de derivados de glutamil de aminas aromáticas como material de sustrato.² En 1963, Orlowski y Meiser introdujeron la γ -Glutamyl-p-nitroanilida como sustrato en³. Kulhanek y Dimov (1966) añadieron glicilglicina y aumentaron significativamente la velocidad de la reacción⁴. En 1969, Szasz publicó un procedimiento cinético para la GGT⁵ en cuyo principio se basa el presente procedimiento. Szasz y Persijn⁶ informaron más tarde de que el derivado de 3-carboxilo, L- γ -glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida (GLUPA-C) podía sustituirse por la L- γ -glutamyl-p-nitroanilida, lo que produce un reactivo más estable. El reactivo líquido de GGT Pointe utiliza este derivado de 3-carboxilo soluble.

Principio



La GGT, en la muestra, cataliza la transferencia del grupo glutamilo de GLUPA-C a glicilglicina según la reacción anterior. La cantidad de 5-amino-2-nitrobenzoato formado es proporcional a la actividad de GGT y puede medirse cinéticamente a 405 nm.

Composición del reactivo

Además de un estabilizador, el reactivo combinado R1 y R2 contiene:

Disolución amortiguadora Tris	<89 mmol/L
Glicilglicina	<126 mmol/L
GLUPA-C	4,0 mmol/L
Azida sódica	0,095%

Preparación de los reactivos

Los reactivos se suministran como líquidos listos para usar.

Estabilidad y almacenamiento de los reactivos

Almacene los reactivos a una temperatura de 2-8°C. Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad si se almacenan según las instrucciones.

NOTA: El reactivo R2 es sensible a la temperatura y puede verse afectado por una exposición prolongada a la temperatura ambiente. Deje que el reactivo vuelva a alcanzar una temperatura de 2-8°C tan pronto como sea posible después de su uso.

Precauciones

- Este reactivo está indicado exclusivamente para el diagnóstico *in vitro*.
- No utilice el reactivo si la absorbancia inicial del reactivo de trabajo es superior a 0,800 cuando se mide a 405 nm frente al agua o si el reactivo no cumple con los parámetros de rendimiento establecidos.
- No pipeteo con la boca. Evite la ingestión y el contacto con la piel, ya que no se ha establecido la toxicidad.
- Los reactivos de este kit contienen azida sódica como conservante. La azida sódica puede formar compuestos explosivos en las tuberías de drenaje metálicas. Cuando elimine los reactivos por las tuberías, aclare con abundante agua. Para obtener más información, véase la sección "Descontaminación de desagües de lavabos de laboratorio para eliminar las sales de azida", en la Guía manual de gestión de seguridad n.º CSC-22 emitida por los Centros para el Control de Enfermedades, Atlanta, Georgia.

Extracción y almacenamiento de muestras

- Use solo suero. La actividad de la GGT es inhibida por la mayoría de los anticoagulantes.
- Se recomienda que las muestras se extraigan de conformidad con el documento NCCLS M29-T2. Ningún método puede ofrecer una garantía total de que las muestras

de sangre humana no transmitan infecciones. Por tanto, todas las muestras de sangre deben considerarse potencialmente infecciosas.

- La GGT sérica se mantiene estable en suero hasta durante siete días cuando se almacena a una temperatura de 2-25°C, hasta un mes cuando se almacena a 4°C y hasta un año a (-20°C) y protegida de la evaporación.⁷
- Todas las muestras y controles deben manipularse de conformidad con las buenas prácticas de laboratorio, tomando las precauciones adecuadas como se describe en el Manual del CDC/NIH, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 2.ª ed., 1988, Publicación del HHS n.º (CDC) 88-8395.

Interferencias

- La mayoría de los anticoagulantes utilizados en los tubos de extracción de sangre inhiben la actividad de la GGT.⁸
- Los fármacos antiépilepticos (fenitoína y barbitúricos) pueden dar falsos niveles elevados de GGT.^{9,10}
- Se ha determinado que la bilirrubina hasta el nivel de 20 mg/dL muestra una interferencia no significativa (< 5%) en este ensayo.
- Se ha determinado que la hemoglobina de 100-500 mg/dL muestra una depresión mínima (aproximadamente 5-7%) de las actividades de GGT recuperadas.
NOTA: El nivel de GGT fue de 45 U/L para el estudio de bilirrubina y de 48 U/L para el estudio de hemoglobina.
- Para obtener una lista completa de interferencias de fármacos, véase Young et al.¹¹

Materiales suministrados

Reactivos de GGT (R1 y R2)

Materiales necesarios, pero no suministrados

- Analizador Yumizen C230 / Yumizen C240
- Manual de instrucciones de Yumizen C230 / Yumizen C240
- Control químico, número de catálogo C7592-100

Parámetros de prueba

Test:	GGT	Química: Glutamyl transferasa
Nº. de química	217	Imprimir nombre: GGT
Tipo de reacción:	Cinética	Dirección de reacción: Positivo
Onda Pri.:	405 nm	Onda Sec. 670 nm
Decimal.:	0	Muestra Tipo: Suero
Tiempo de blanco:		Tiempo de reacción: 3 11
Unidad:	U/L	Tiempo de incubación: 3

	Vol. de muestra	Aspirado	Diluyente	Vol. de reactivo	Diluyente
Estándar:	9	uL	uL	UI R1: 180	uL uL
Reducido:		uL	uL	uL R2: 45	uL uL
Aumentado:		uL	uL	uL	

Rango de linealidad (Estándar): 0-800	Límite de linealidad: 0.3
Rango de linealidad (Reducido):	Agotamiento del sustrato: 25000
Rango de linealidad (aumentado):	Abs. de blanco mezclado: - 40000 40000
Abs. de blanco de R1: - 40000 40000	Estabilidad en el equipo: 30 Día(s)
Respuesta de blanco - 40000 40000	Límite de alarma del reactivo: 5
Química idéntica:	

Comprobación de prozona:		
Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Usar resultado cualitativo:	
Rango:	Aviso:

Conjunto de reactivos (γ -glutamyl transferasa) GGT Pointe

Compensación de pendiente:		
Pendiente	Compensación	Unidad
1	0	U/L

Pretratamiento:	
Vol. de la muestra de pretratamiento:	Vol. del reactivo de pretratamiento:
uL	μ l

Rango de ref.:					
Tipo de muestra:	Género:	Rango de edad:	Rango de ref.:	Rango crítico:	Unidad:

Parámetros de configuración de calibración

Quím:	GGT			
Config. calibración		Calibrador	Conc.	Pos.
Modelo mat: Factor K		Agua	0,0	W
Factor: 2642000 Réplicas: 2				
Límites de aceptación				
Tiempo Cal: 24 hr.				
Dif. Pendiente: SD:				
Sensibilidad: Repetibilidad:				* Definido por el usuario
Coef. Deter:				
Auto Calib.				
<input type="checkbox"/> Tiempo cal				

Limitaciones

Las muestras que excedan el límite de linealidad (800 U/L) deben diluirse con un volumen igual de solución salina y volver a analizarse y los resultados finales multiplicarse por dos.

Calibración

El procedimiento se calibra mediante la absorbividad milimolar del 5-amino-2-nitrobenzoato que es 9,5 a 405 nm en las condiciones especificadas. Los resultados se basan en el cambio de absorbancia por minuto. Todos los parámetros deben ser conocidos y estar controlados.

Cálculo (Ejemplo)

La actividad de GGT se expresa en unidades/litro. A 37°C, una Unidad (U/L) se define como la cantidad de enzima que cataliza la transformación de un micromol de sustrato por minuto en condiciones definidas.

$$\frac{\Delta \text{Abs}/\text{min} \times \text{TV} \times 1000}{\text{MMA} \times \text{SV} \times \text{LP}} = \text{U/L GGT en muestra}$$

$\Delta \text{Abs}/\text{min}$	Cambio en la absorbancia por minuto.
TV	Volumen total del ensayo (1,100 mL).
1000	Conversión de mL a L.
MMA	absorbividad milimolar de 5-amino-2-nitrobenzoato(9,5).
SV	Volumen de la muestra (0,100 mL).
LP	Paso de luz (1 cm).

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

Por tanto: $\Delta \text{Abs}/\text{min} \times 1158 = \text{U/L de desconocido}$

Ejemplo: Si $\Delta \text{Abs}/\text{min} = 0,06$, entonces $0,06 \times 1158 = 69 \text{ U/L}$

Nota: Si se cambia alguno de los parámetros anteriores, se debe recalcular un nuevo factor.

Control de calidad

La validez de la reacción debe supervisarse mediante el uso de sueros de control con valores de GGT normales y anormales conocidos. Estos controles deben realizarse, al menos, en cada turno de trabajo en el que se realicen ensayos de GGT. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propia frecuencia de determinación de control. Los requisitos de control de calidad deben realizarse de conformidad con la normativa local, estatal y/o nacional o con los requisitos de acreditación.

Valores esperados¹²

Hombres: 8-37 U/L a 30°C, 9-54 U/L a 37°C
Mujeres: 6-24 U/L a 30°C, 8-35 U/L a 37°C

Debido a una amplia gama de condiciones (dietéticas, geográficas, de edad, etc.) que se cree que afectan los rangos normales, se recomienda encarecidamente que cada laboratorio determine su propio rango de referencia.

Rendimiento

- Linealidad: 0-800 U/L. Las muestras que excedan 800 U/L deben diluirse con un volumen igual de solución salina y volver a analizarse. Multiplique el resultado por dos.
- Comparación: Se realizó un estudio entre la serie Yumizen 200 y un analizador y método similar, que dio como resultado un coeficiente de correlación de 0,998 y la ecuación de regresión fue $y=1,02x+4,8$.
- Precisión: Los estudios de precisión se realizaron, siguiendo la modificación de las directrices del documento NCCLS EP5-T2.¹³

Media	Intraeserial		Media	Día a día	
	D.S.	% C.V		D.S.	% 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

- Sensibilidad: La sensibilidad del reactivo líquido de GGT se investigó, leyendo el cambio en la absorbancia de una muestra de solución salina y muestras de suero con concentraciones conocidas. Se realizaron diez réplicas de cada muestra. Los resultados de esta investigación indicaron que, en el analizador utilizado, el reactivo líquido GGT mostró poca o ninguna desviación en una muestra cero. En las condiciones de reacción descritas, 1 U/L da un movimiento de absorbancia de 0,0003.

Referencias

- 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).

Clave de símbolo

Usar antes de (AAAA-MM-DD)	Lote y código de lote
Número de catálogo	Fabricante
Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	Limitación de temperatura
Consultar instrucciones de uso	Rx Only: Venta exclusiva con receta médica
Marca CE	Representante autorizado en la Comunidad Europea

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 Europeo Autorizado:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Brussels, BELGICA

Tel.: (+32)2.732.59.54 Fax: (+32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



Certificado para emplear reactivos

Los reactivos Pointe están certificados para ser fabricados de acuerdo con los parámetros especificados. Cualquier producto de reactivo Pointe que no cumpla con las especificaciones hasta la fecha de vencimiento indicada se reparará de inmediato sin cargo.