

Utilização prevista

Para a determinação cinética quantitativa da atividade de gama-glutamyltransferase (GGT) no soro utilizando o analisador Yumizen C560. **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 glutâmicos 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

L- γ -glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida + glicilglicina $\xrightarrow{\text{GGT}}$ L- γ -glutamylglicilglicina + 5-amino-2-nitrobenzoato

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. Estudos do fabricante demonstraram que o reagente mantém-se estável durante 30 dias uma vez colocado no carrossel de reagentes refrigerados (2-10°C), no entanto, a estabilidade dos reagentes pode variar com base nas condições laboratoriais individuais.

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 e perigos

1. Este reagente destina-se apenas a diagnóstico *in vitro*.
2. 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.
3. Não utilize a pipeta com a boca. Evitar a ingestão e o contacto com a pele.
4. 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.

Perigos:

R1 e R2: Classificações de perigo: Não é uma substância ou mistura perigosa.

Pictograma: Não é necessária.

Palavra-sinal: Não é necessária.

Advertências de perigo: Não é uma substância ou mistura perigosa.

Recomendações de prudência: Não é uma substância ou mistura perigosa.

Consulte a Ficha de Dados de Segurança deste produto (SDS-G7571), disponível através do número de telefone 1-734-487-8300.

Colheita e armazenamento de amostras

1. Utilize apenas soro. A atividade da GGT é inibida pela maioria dos anticoagulantes.
2. 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.
3. 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
4. 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

1. A maioria dos anticoagulantes utilizados nos tubos de colheita de sangue inibem a atividade da GGT.⁸
2. Os medicamentos antiepilépticos (fenitoína e barbitúricos) podem elevar erradamente os níveis de GGT.^{9,10}
3. Verificou-se que a bilirrubina até ao nível de 20 mg/dL apresenta uma interferência negligenciável (<5%) neste ensaio.
4. 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.
5. Para obter uma lista exaustiva das interferências de medicamentos, consulte Young, et al.¹¹

Conjunto de Reagentes de GGT (γ -glutamilttransferase) Líquido Pointe

Materiais fornecidos

Reagentes de GGT (R1 e R2)

Materiais necessários, mas não fornecidos

1. Analisador Yumizen C560
2. Manual de utilização do Yumizen C560
3. Controlo de química, número de catálogo C7592-100

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.

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 esperados ¹²

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

1. Intervalo do ensaio: 1-800 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.
2. Comparação: Foi realizado um estudo entre o Yumizen C560 e um analisador e método semelhantes, com os seguintes resultados:

Método	GGT
N	85
GGT média (U/L)	130,6
Intervalo (U/L)	6-728
Desvio padrão	193,2
Análise de regressão	$y = 1,049x - 2,3$
Coefficiente de correlação	0,9998

3. Precisão: Foram realizados estudos de precisão na sequência da modificação das diretrizes constantes do documento NCCLS EP5-T2.¹³

Amostra	Na mesma determinação			Total		
	LOW	MID	HIGH	LOW	MID	HIGH
N	20	20	20	40	40	40
Média	42,8	146,2	687,0	42,4	147,3	691,4
Desvio padrão	0,6	0,7	1,5	0,6	15,8	4,6
Coefficiente de variação (%)	1,3%	0,5%	0,2%	1,5%	1,1%	0,7%

4. Sensibilidade: Limite de deteção de 2 DP (95% de Conf) = 1 U/L

Bibliografia

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

PARÂMETROS DE QUÍMICA

Quím:	GGT	N.º:	217	Tipo de amostra:	Soro
Química:	Gama-glutamyltransferase			Nome em letra de imprensa:	GGT
Tipo de reação:	Cinética			Direção de reação:	Positiva
Onda pri:	412			Onda sec:	660
Unidade:	U/L			Decimal	0
Tempo de branco:	0 0			Tempo de reação:	56 71
	Vol. amostra	Aspirado	Diluyente	Vol. reagente	Diluyente
Padrão:	7,0 uL	--- uL	--- uL	R1:	120 uL --- uL
Diminuído:	--- uL	--- uL	--- uL	R2:	30 uL -- uL
Aumentado:	--- uL	--- uL	--- uL	R3:	--- uL -- uL
	<input type="checkbox"/> Branco da amostra	<input checked="" type="checkbox"/> Repetição automática		R4:	--- uL --- uL
<u>Ajuste de declive/desvio</u>					
Declive: 1		Desvio: 0			

Intervalo de linearidade (padrão)	1	800	Limite de linearidade:	0.3
Intervalo de linearidade (diminuído)	---	---	Redução de substrato:	25000
Intervalo de linearidade (aumentado)	---	---	Abs de branco misturado:	
Abs de branco R1:	---	---	Tempo para destapar	
Resposta de branco:	---	---	Limite de alarme do reagente:	
Química dupla:			<input type="checkbox"/> Extensão linear da enzima	
<input type="checkbox"/> Verificação prozona		<input type="radio"/> Verificação de taxa	<input type="radio"/> Adição de antigénio	
Q1:	Q2:	Q3:	Q4:	
PC:	ABS:			

Conjunto de Reagentes de GGT (γ -glutamyltransferase) Líquido Pointe

PARÂMETROS DE CALIBRAÇÃO

Definição do calibrador						
Calibrador:	*	N.º do lote:			*	
Data de validade:	*					
Carrossel	Pos					
Carrossel de amostras 1	*					
Carrossel de amostras 2						
Carrossel de amostras 3						
Reagente/Calibração						
<u>Calibrador</u>	<u>Pos</u>	<u>N.º do lote</u>	<u>Data de validade</u>	<u>Quím</u>	<u>Conc</u>	<u>Unidade</u>
Água	A	*	*	GGT	0	U/L
Configuração da calibração						
Quím:	GGT					
<u>Definições da calibração</u>						
Modelo matemático: Fator K						
Fator:	2933	Réplicas:	1			
<u>Limites de aceitação</u>						
Tempo cal:	24	Hora				
Dif declive:	---	DP:	---			
Sensibilidade:	---	Repetibilidade:	---			
Deter coef:	---					
<u>Calib. auto.</u>						
<input type="checkbox"/> Frasco trocado	<input type="checkbox"/> Lote trocado	<input type="checkbox"/> Tempo cal				

Recomenda-se que dois níveis de material de controlo sejam submetidos a ensaio diariamente.

* Indica parâmetros definidos pelo utilizador.

REF 14-G7571-200



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



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.

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



Legenda dos símbolos



Utilizar até (AAAA-MM-DD)



Lote e código



Número de catálogo



Fabricante



Limite de temperatura



Consulte as instruções de utilização



Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*

Rx Only: Utilização apenas mediante receita médica