



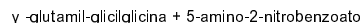
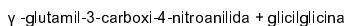
QUIMIGAMA - GAMA-GT Amino-nitrobenzoato

Finalidade:

Reação enzimática para determinação quantitativa de Gama-glutamilttransferase (GGT) em amostras de soro e plasma humano. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

Princípio:

O método utiliza Glicina no momento em que a reação é iniciada com a adição da amostra. GGT presente na amostra catalisa a transferência do grupo glutamilo do substrato para glicilglicina formando glutamiltglicina e 5-amino-2-nitrobenzoato.



Metodologia:

IFCC-Cinético

Significado Clínico:

A determinação da atividade da gama-GT é útil na avaliação de hepatopatias agudas e crônicas, estando a atividade enzimática elevada nos quadros de colestase intra ou extra-hepática. Os níveis de gama-GT também se elevam na doença hepática alcoólica aguda ou crônica e nas neoplasias primárias ou metastáticas. A gama-GT catalisa a transferência do ácido glutâmico de um peptídeo para outro, ligando-o sempre ao grupo gama-carboxílico. Essa enzima parece facilitar também a transferência do ácido glutâmico. Eventualmente, a dosagem da atividade de Gama-GT pode ser utilizada na comprovação do uso de álcool pelo paciente. Nesse caso é importante afastar outras causas de elevação da gama-GT. Alguns medicamentos como fenitoina, fenobarbital, acetaminofen interferem na dosagem.

Reagentes:

Reagente 1: Pronto para uso. Conservar entre 2 - 8 °C. Contém: Glicilglicina 150mM, hidróxido de sódio 130mmol/L;
Reagente 2: Pronto para uso. Conservar entre 2 - 8 °C. Contém: γ -glutamilt-3-carboxi-4-nitroanilida 6,0mM. Mantê-lo ao abrigo da luz.

Os reagentes não abertos são estáveis até a data de vencimento impressa no rótulo do produto e on board (em um compartimento refrigerado do analisador) possuem estabilidade de aproximadamente 21 dias. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminação de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

REAGENTE DE TRABALHO

Para alguns analisadores é necessário preparar o Reagente de Trabalho (verifique o protocolo do analisador): Preparar 4 partes do reagente 1 para 1 parte do reagente 2. Ex.: 4mL de R1 + 1mL de R2. O reagente após o preparo é estável até 3 semanas quando armazenado a 2 - 8°C ao abrigo da luz.

Precauções e Cuidados Requeridos:

Este reagente deve ser usado somente para diagnóstico "in vitro". Não pipetar com a boca. Evitar contato com a pele e roupa. No caso de contato com os olhos, lavar com grande quantidade de água e procurar auxílio médico. Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos. Não usar se a absorvância do branco ultrapassar 1.450 quando medido em 405 nm (cuveta de 1cm), se o reagente estiver turvo ou se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco.

Material Necessário não Fornecido:

- Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorvância de 405 nm.
- Pipetas para medição de amostras e reagente.
- Consumíveis do analisador quando usado.
- Soros Controle e Calibrador
- Medidor de tempo.

Amostra:

A Gama-GT é estável na soro e no plasma (EDTA) por 5 dias se mantido entre 2 - 8°C. Todas as amostras são consideradas potencialmente infectantes, portanto sugerimos manuseá-las seguindo as normas estabelecidas de Biossegurança.

Preparo do Paciente:

É recomendado um jejum de 4 horas. Todavia, poderá ser modificado segundo orientação médica.

Interferências:

Heparina produz resultados falsamente diminuídos. Amostras coletadas com anticoagulantes contendo citrato, fluoreto ou oxalato

inibem a atividade da gama-GT, os quais irão interferir no teste. Anti-hepiléticos podem elevar falsamente os níveis de gama-GT. Bilirrubina até 10 mg/dL, Lipemia até 2.5 g/L medidos como triglicérides e hemoglobina até 8 g/L não interferem significativamente no resultado.

Para uma lista completa de drogas que interferem na dosagem de gama-GT, sugerimos consultar Young et al.

Parâmetros do Sistema:

Temperatura: 37°C
Comprimento de Onda: 405 nm.
Tipo de Reação: Cinética
Direção: Crescente
Relação Amostra/Reativo: 1:25
Vol. Amostra: 40 µL
Vol. Reagente: 1,0 mL (800µL R1 + 200µL R2)
Intervalo de leitura: 1 minuto
Número de Intervalos: 2 - 3

Calibração:

Utilizar Quimicalib Ebram cód.7023/12023 que possui a concentração rastreável ao método de referência proposto pelo CLSI, ou realizar a calibração através de fatoração, obtida através da absorção média milimolar do 3-carboxi-4-nitroanilina a 405 nm (9.900) sob condições específicas.

Procedimento Automatizado:

Aplicação no sistema automatizado: vide manual para utilização do equipamento e instruções de uso do reagente.

Aplicação no sistema semi-automático: proceder como demonstrado a seguir no procedimento manual somente até o item 2 (preparação dos tubos), em seguida utilizar o equipamento para leitura, seguindo protocolo analítico específico baseado no item Parâmetros do Sistema.

Nota: Adicionar as amostras no tubo somente no momento que antecede a aspiração do equipamento.

Procedimento Manual:

- Preparar o Reagente de Trabalho: Misturar os reagentes na proporção: 1 parte do Reagente 2 + 4 partes do Reagente 1 (4mL R1 + 1mL R2).
- Separar 3 tubos de ensaio e realizar os procedimentos conforme abaixo:

	Branco	Calib.	Amostra/S.C.
Água destilada	40µL	-	-
Calibrador	-	40µL	-
Amostra/S.C.	-	-	40µL
Reagente de trabalho	1,0mL	1,0 mL	1,0 mL

- Adicionar 1,0 mL do reagente de trabalho em dois tubo e deixe em banho - maria (BM) a 37°C. O nível de água no BM deve ser superior ao nível de reagentes nos tubos de ensaio.
 - Adicionar 40µL do calibrador e 40µL de água destilada em cada tubo
 - Zerar o espectrofotômetro a 405nm com o tubo do branco.
 - Inserir no equipamento o tubo com o calibrador e registrar as absorvâncias A1, A2, A3, considerando A1 a primeira leitura e as seguintes com 1 minutos de intervalo.
 - Determinar as duas diferenças de absorvância/min (Δ Abs/min), subtraindo cada leitura de sua anterior.
 - Determinar a média das diferenças de absorvância (Δ Abs/min). Proceder em seguida do mesmo modo com os controles e todas as amostras.
- Obs.: Procedimento sugerido para espectrofotômetros que requerem volume mínimo de 1,0 mL e podem ser ajustados proporcionalmente sem influência no desempenho do teste. Salientamos que volumes de amostra menores do que 10 µL aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

Cálculos:

(Abs. = Absorvância)
(Conc. = Concentração)
 Δ Abs. /min = (A2 - A1) + (A3 - A2) / 2

GGT da Amostra (U/L) = $\frac{\Delta \text{ Abs. /min (amostra)}}{\Delta \text{ Abs. /min (Calib)}} \times \text{Conc. Do Calib (U/L)}$

Exemplo:

Absorvância com o Calibrador
A1= 0,052 / A2= 0,079 / A3= 0,145
Média = (0,079 - 0,052) + (0,145 - 0,079) / 2
 Δ Abs/min = 0,064
Média Δ Abs/min (calib) = 0,0465
Média Δ Abs/min (amostra) = 0,0204 (calc. l dem acima)
Concentração do Calibrador = 108 U/L

GGT Amostra = (0,0204 / 0,0465) 108
GGT Amostra= 47 U/L
Obs: nkat/L= U/L x 16,67

Linearidade:

Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 800 U/L. Amostras com valores superiores a 800 U/L devem ser diluídas com solução salina a ponto de ficarem entre 5.34 - 800 U/L e os resultados devem ser multiplicados pelo fator de diluição.

Controle de Qualidade:

Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade

que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e ações corretivas. Deve-se manter também um sistema definido para se monitorar a variação analítica do sistema de medição. Aconselhamos o uso dos soros controle Quimicontrol Normal e Quimicontrol Anormal Ebram Cód. 7024/12024 e 7031/12031.

Valores Esperados:

Os seguintes valores são baseados nas medições desempenhadas a 37°C.

Adultos:	Mulheres	9 - 36 U/L
	Homem	12 - 64 U/L
Crianças/Adolescentes:		
1 dia - 6 meses	Mulheres	15 - 132 U/L
	Homens	12 - 122 U/L
6 meses - 1 ano	Mulheres	1 - 39 U/L
	Homens	1 - 39 U/L
1 - 12 anos	Mulheres	4 - 22 U/L
	Homens	3 - 22 U/L
13 - 18 anos	Mulheres	4 - 24 U/L
	Homens	2 - 42 U/L

Estes valores são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

Estudos Comparativos:

Estudos executados entre este procedimento e uma metodologia similar produziram os seguintes resultados:

Número de Amostras:	43
Intervalo dos resultados	3,0 - 308,0 (U/L)
Coefficiente de Correlação:	0,9992
Inclinação:	0,9880
Intercepta:	-0,4 (U/L)

Precisão:

Estudos de precisão foram executados com três níveis (baixo, normal e patológico) sendo que cada amostra fora processada por 40 vezes e os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=40	Nível 1	Nível 2	Nível 3
Média (U/L)	34,0	86,1	148,2
D.P. (U/L)	1,3	1,9	2,5
C.V. (%)	3,9	2,3	1,7

Exatidão:

As amostras foram processadas por 10 dias consecutivos, uma vez por dia e em quadruplicata. Os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=40	Nível 1	Nível 2	Nível 3
Média (U/L)	34,0	86,1	148,2
D.P. (U/L)	1,3	2,3	2,9
C.V. (%)	3,9	2,8	2,0

Sensibilidade Metodológica:

5.34 U/L

Especificidade:

Como as amostras foram selecionadas aleatoriamente em pacientes de ambulatório e hospitalizados, pode-se inferir que o método tem uma especificidade metodológica adequada.

Observações:

- A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
- A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade ≥ 1 mega ohm ou condutividade ≤ 1 microsiemens e concentração de silicatos $< 0,1$ mg/L (água tipo II). Para o enxágue da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade $\geq 0,1$ megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágue final utilizar água tipo II.

Apresentação:

Linha Bioquímica Geral: R1= 8 x 10mL + R2= 4 x 5mL
Linha Hitachi 917: R1= 1 x 60mL + R2= 1 x 17mL
Linha Quimistat: R1= 2 x 36mL + R2= 1 x 18mL
Linha Bulk: R1= 1 x 200mL + R2= 1 x 50mL

Para mais informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM - tel. (011) 2291-2811, sac@ebram.com ou www.ebram.com

Referência Bibliográfica:

- Rosalki, S.B., Advances in Clinical Chemistry, Vol. 17, New York, Academic Press, p.53 (1975).
- Wolf, P.L., et al, Practical Clinical Enzymology and Biochemical Profiling, New York, Wiley-Interscience p.37 (1973).
- Tiets, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B.Saunders, Philadelphia, PA., p1213(1982).
- Young, D.S. Effects of drug on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
- IFCC Primary reference Procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 6. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of γ -Glutamyltransferase. Clin Chem Lab Med 2002; 40:734-738
- IFCC reference procedures for measurement of catalytic concentrations of enzymes corrigendum, notes and useful advice. Clin Chem Lab Med 2010; 48: 615-621
- Arquivos da EBRAM.



APLICAÇÃO PARA COBAS MIRA

GENERAL	
Measurement Mode:	ABSORB
Reaction Mode:	R-S-SR1
Calibration Mode:	Calibr (Single AVG)
Reagent Blank:	REAG/DIL
Cleaner:	BEFORE
Wavelength:	405 nm
Decimal Position:	0
Unit:	U/L
ANALYSIS	
Dilution Name:	STD
Factor:	Main STD
Time:	Sample Dil Name: H2O
Post Dil Factor: 2.00	Conc. Factor: NO
Sample:	Circle: 2
Volume:	Dil: 20 ul
Reagent:	Circle: 1
Volume:	160 ul
Start Reagent 1:	Circle: 1
Volume:	Dil: 10 ul
Start Reagent 2:	Circle:
Volume:	Dil:
CALCULATION	
Sample Limit:	0.5000
Point:	T2
Reaction Direction:	INCREASE
Check:	ON
Conversion Factor:	1.000
Offset:	0.000
Test Range Low:	0 U/L
High:	800 U/L
Norm Range Low:	9 U/L
High:	64 U/L
Number of Slats:	1
Calculation Step A:	KINSEARCH
Readings First:	9
Last:	15
Reaction Limit:	0.5000
Point:	T2
Calib Interval:	ON REQUEST
CALIBRATION	
Reagent Blank:	
Reagent Range:	
Reagent Range Low: 0.0000	Blank Range Low: -0.0050
High: 1.5000	High: 0.0050
Factor:	4658
Calibrator Pos:	(*)
STD1:	(**)
STD2:	STD2:
STD3:	STD4:
STD5:	STD6:
STD7:	STD8:
Calc Model:	
Correction STD:	
Replicate:	Duplicate
Deviation:	5%
CONTROL	
CS1 - Pos(*) Assion(**) Low(**)	
CS2 - Pos(*) Assion(**) Low(**)	
CS3 - Pos(*) Assion(**) Low(**)	

(*) colocar a posição correspondente do controle do Rack CAL/CS

(**) colocar o valor correspondente do calibrador

(***) colocar o valor correspondente do soro controle

Utilizar o produto na forma Bireagente

APLICAÇÃO PARA EXPRESS 550

Test Name: GGT	Test: GGT			
Test Bar Code:				
Test Type: KINETIC	Curve Type: Enzyme Linear			
Units: U/L	Nº of Decimal Places: 0			
Primary Wavelength: 405nm	Secondary Wavelength: 600 nm			
Read Time Interval: 60	Sample Blank: NO			
Factor:				
Calibration Interval: (*)				
Normalization Interval: (*)				
Nº of Calibrators: 2	Nº of Replicates: 2			
Low Blank A Limit: 0.000	High Blank A Limit: 0.550			
Low A Limit: 0.000	High A Limit: 1.400			
Low Normal: 9	High Normal: 64			
Linearity Limit: 800	Curve S.D. Limit: 6.000			
Test Name: GGT	Test: GGT			
Test Bar Code:				
Sample Volume: 13 ul	Sample Diluent:			
Reagent Dilution Ratio: 2	Predilution Ratio: 1			
Reagent Dilution:				
Reagent 1	Reagent Volume	Bar Code	Diluent Volume	Lag Time
Reagent 2	260	ZC2A	-	60 sec
Reagent 3				
Reagent 4				
Controls:				

Preparar reagente de trabalho (4 partes do R1 para 1 parte do R2)

Ebram Prods.Laboratoriais Ltda@

Rua Júlio de Castilhos, nº 500 - Belenzinho

São Paulo - SP - Cep: 03059-001

Tel.: (11) 2291-2811

Indústria Brasileira

CNPJ.: 50.657.402/0001-31

www.ebram.com

sac@ebram.com

SAC.: (11) 2291-2811

Resp.Téc.: Nadjara Novaes Longen

CRF-SP - 37.451

Nº do Reg. MS: 10159820160

Edição: Jul/2018

APLICAÇÃO PARA SELECTRA

Name:	GGT
Abbr Name:	GGT
Mode:	KINETIC
Wavelength:	405 nm
Units:	U/L
Decimals:	0
Low Conc:	5.34 U/L
High Conc:	800 U/L
Calibrator Name:	
Repeat:	(*)
Number:	2
Concentration:	(**)
Interval:	(*)
Cut off:	NO
Prozone Check:	
Ref Male Low:	12
Ref Male High:	84
Ref Female Low:	9
Ref Female High:	36
Ref Pad Low:	(*)
Ref Pad High:	(*)
Control 1:	(**)
Control 2:	(**)
Control 3:	(**)
Comstat Factor:	1.000
Comstat Offset:	0.000 U/L

DUAL MODE	
Name:	GGT
Sample Blank:	NO
R1 Bottle:	25 ml
Normal Volume:	240 ul
Reagent Volume:	249 ul
SAMPLE	
Normal Volume:	12 ul
Reagent Volume:	3 ul
R2 Bottle:	5 ml
Normal Volume:	0 ul
Reagent Volume:	0 ul
Predilution:	
Slope Blank:	NO
Delay Min Time:	77.230
Linearity Limit:	15.0%
Point One - Two:	
Incubation Time:	
Low Absorbance:	-0.100
High Absorbance:	3.000
R ABS L Limit:	-0.100
R ABS H Limit:	1.000
Substr Depletion:	
Reagent Blank:	3.000
R ABS Deviation:	YES (**)
Cal Low Limit:	(*)
Cal High Limit:	(*)
Factor:	(***)

MONO MODE	
Name:	GGT
Sample Blank:	NO
R1 Bottle:	25 ml
Normal Volume:	240 ul
Reagent Volume:	249 ul
SAMPLE	
Normal Volume:	12 ul
Reagent Volume:	3 ul
Delay Min Time:	70.137
Linearity Limit:	15.0%
Predilution:	
Incubation Time:	
Point One - Two:	
Low Absorbance:	-0.100
High Absorbance:	3.000
R ABS L Limit:	-0.100
R ABS H Limit:	1.000
Substr Depletion:	
Reagent Blank:	3.000
R ABS Deviation:	YES (**)
Cal Low Limit:	(*)
Cal High Limit:	(*)
Factor:	(***)

(*) Introduzido pelo operador

(**) Colocar o valor correspondente do Calibrador

(***) Dados calculado pelo analisador

(#) Preparar reagente de trabalho (4 partes do R1 para 1 parte do R2)

APLICAÇÃO PARA BTR 810

Name:	GGT
Point Final:	U/L
Units:	U/L
Mode Label:	405nm
Filter:	
Tempo Estab:	
Factor:	
Tempo de Incubação:	060
Tempo de Intervalo:	060
Nº de Intervalos:	3
Temperatura:	37°C
Volume Amoçlo:	0400
Tipo Reação:	CRESCENTE
Estandart:	**

APLICAÇÃO PARA QUICK LAB

Mode:	CINETICO
Label:	
Filter:	405 nm
Temperatura:	37°C
Volume Amoç:	0500
Units:	U/L
Linea Lin:	800 U/L
Inclinação:	CRESCENTE
Cálculo:	PADRÃO
Padão:	**
Factor:	
Delay Inicial:	080
Quant Inerv:	3
Tempo Interv:	080
Tempo Estab:	

APLICAÇÃO PARA BIO 2000

Mode:	CIN
WL1:	405
Blank:	
Bik Amoç Pad:	
Tempo:	37°C
Vol Amoç:	0400
Rei:	080
Pad:	
Padão:	SIM
Pad:	ÚNICA
Unit:	**
Unit:	U/L
Dec:	0
Int Clin:	080
nº Int:	3
dAMIN:	0.280
%Lim Lin:	10
Dir:	INCR
Lim Lin - Min/Max:	
Abs Real - Min/Max:	0.000
Abs Pad - Min/Max:	1.000
Vol/n - Min/Max:	0009/0064

APLICAÇÃO PARA RA-XT

Name:	GGT
Immunosay:	NO (0)
Chemistry Type:	ZERO ORDER (0)
BioType:	
Immuno Chemistry:	NO (0)
% Sample Volume:	60 (25ul)
Wavelength:	450 nm (3)
Biochromatic Chemistry:	
Biochromatic Factor:	NO (0)
K1:	
K2:	
Bio Limit 1:	
Bio Limit 2:	
Deviation Limit:	
Delay Time:	0.30
Blank Type:	NO BLANK
Incubation:	
% Reagent Volume:	74 (375ul)
2nd Reagent:	
2nd Reagent Volume:	0 (No)
A2 Delay:	
Units:	3 (U/L)
Unit Factor:	1
Decimal Point:	0
RBL Low:	0.0000
RBL High:	0.8000
Range Low:	0
Range High:	800
Calibration Factor:	-
Reagent Rate:	0.0
Standard Value:	**
Normal Low:	9
Normal High:	64
Slates:	1
Inherent:	0
C1*10-E-6:	0.0
C2*10-E-6:	88989.01
D1*10-E-6:	38.58
Del.R:	0.015
Linear Factor:	
Flat Limit:	
Endoan.Limit:	

(*) Colocar 1 como valor inicial. O valor do CAL FACT é determinado pelo ensaio de calibração

(**) colocar o valor correspondente ao calibrador

APLICAÇÃO PARA AIRONE

Measure Unit:	U/L	Decimals:	0	Reaction Type:	KINETIC
Volume (µl):	20	Reagent 1:	400	Plasma:	Urine:
Abs Range (m Abs):	Min: 0	Reagent 2:	0	Max:	800
Linearity Limit:	800	Reagent Blank:	NO	Differential:	NO
Contaminating:	NO	Filter:	NONE	Time (sec):	Mix 1: 0:00
Filter 1:	405	Incubation 1:	40	Lag Phase:	20
Mix 2: 0:00	Incubation 2:	0	Measure:	30	
Measurement Type: STANDARD		Factor:		0.00	
Normal Range		Homens		Mulheres	
Age (yrs)	Min.	Max.	Min.	Max.	
Below 10:	0.00		0.00		
From 10 to 60:	12.00	64.00	6.00	36.00	
Over:	0.00		0.00		

Preparar reagente de trabalho (4 partes do R1 para 1 parte do R2)

Disponos de programações para outros analisadores e programações utilizando o reagente na forma BIREAGENTE ou como reagente de trabalho (MONOREAGENTE) . Para solicitações entre em contato com SAC EBRAM.