

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMIGAMA – GAMA GT	Página 1 de 3 POP BIOxxx/xx
--------------------------------------	--	--

USO

Reação enzimática para determinação quantitativa de gama-glutamilttransferase (GGT) em amostras de soro. 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 glutamil do substrato para glicilglicina formando glutamilglicina e 5-amino-2-nitrobenzoato.

L g-glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida + glicilglicina

Gama - GT

----->

L g-glutamilglicina + 5-amino-2-nitrobenzoato

O limite da formação de 5-amino-2-nitrobenzoato é proporcional à atividade de GGT presente na amostra e pode ser medido cineticamente a 405nm.

AMOSTRA.

Amostra: Soro é recomendado.O anticoagulante inibe a atividade da enzima.

Armazenamento e estabilidade pré analítico : A Gama-GT no soro é estável por 7 dias se mantido entre 2 – 8°C. A amostra poderá ser congelada (-20°C) por dois meses quando vedada o que resulta em mínima perda da atividade.

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 seguindo orientação médica.

PRODUTO UTILIZADO

QUIMIGAMA – GAMA GT MS: **10159820160**

Fabricante: Ebram Produtos Laboratoriais Ltda.

Rua Julio de Castilhos, 500.

Belenzinho – São Paulo –SP – Brasil - CEP: 03059-001

Para maiores informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM:

Tel. (011) 2291-2811 ou sac@ebram.com

EQUIPAMENTOS

- **Procedimento Manual**

Espectrofotômetro ou fotômetro com cubeta termostaticada 37°C para leituras a 405 nm

Cubetas ou fluxo contínuo com 1.0 cm de passo óptico

Banho-Maria 37°C

Pipetas calibradas ou dispensador automático para reagentes e amostras

- **Procedimento Automatizado**

Indicar o nome, modelo e o local onde se encontra o equipamento analisador automatizado, fazendo referência ao manual (ou POP) para utilização do mesmo

- **Procedimento alternativo**

Indicar o equipamento alternativo e os respectivos procedimentos para medição dos ensaios. Enumerar as diferenças esperadas quando procedimentos manuais substituem automatizados.

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. 12024/7024 e 12031/7031.

PROCEDIMENTO

• Procedimento Manual

1. Preparar o Reagente de Trabalho: Misturar os reagentes na proporção: 1 parte do Reagente 2 + 4 partes do Reagente 1 (4mL R1 + 1mL R2). Reagente assim preparado permanece estável por 30 dias a 2 - 8°C.
1. Colocar 1,00mL do reagente de trabalho no tubo referente ao soro controle.
2. Zerar o espectrofotômetro a 405 nm com água destilada.
3. Cuidadosamente, adicionar 40µL do soro controle/amostra no tubo correspondente, homogeneizar e deixar em BM a 37°C. Acionar o cronômetro.
4. Registrar as absorvâncias A1, A2, A3, quando completar 2, 3 e 4 minutos respectivamente.
5. Determinar as duas diferenças de absorvância/min (Δ Abs/min), subtraindo cada leitura de sua anterior.
6. Determinar a média das diferenças de absorvância (Δ Abs/min). Proceder em seguida do mesmo modo com todas as amostras.

Nota: Realizar a incubação das amostras e soro controle individualmente.

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.

• Procedimento Automatizado

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

Aplicação no sistema semi-automático: Em um tubo de ensaio acrescentar 1,00mL do reagente de trabalho, adicionar 40 µL de amostra/soro controle. Ler imediatamente no equipamento, preparar também um tubo contendo pelo menos 0,5 mL do reagente de trabalho (os equipamentos no início do procedimento, solicitam que seja introduzido o reagente para verificação da absorvância do reagente), seguir protocolo analítico específico baseado no item Parâmetros do Sistema. Pode-se utilizar o fator de calibração enunciado para o procedimento manual, pequenos ajustes podem ser necessários.

• Precauções e cuidados especiais

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 1.5 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.

CÁLCULOS

$$\text{Média } \Delta \text{ Abs/min} = \frac{(A2-A1) + (A3-A2)}{2}$$

$$\text{GAMA GT Amostra U/L} = \text{Média } \Delta \text{ Abs/min} \times \text{Fator}$$

$$\text{Fator} = 2736$$

RESULTADOS

- Unidade de medida: U/L

- Valores de Referência

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

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMIGAMA – GAMA GT	Página 1 de 3 POP BIOxxx/xx
--------------------------------------	--	--

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.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- Linearidade / Sensibilidade**

Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 1000 U/L. Amostras com valores superiores a 1000 U/L devem ser diluídas com solução salina a ponto de ficarem entre 2.8 e 1000 U/L e os resultados devem ser multiplicados pelo fator de diluição.

Sensibilidade : 2.8 U/L

- 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-hepáticos podem elevar falsamente os níveis de gama-GT.

Bilirrubina até 22.7 mg/dL, Lipemia até 1020 mg/dL medidos como triglicérides e hemoglobina até 1000mg/dL não interferem significativamente no resultado.

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

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 cataliza 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 fenitoína, fenobarbital, acetaminofen interferem na dosagem.

REFERÊNCIAS

- 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).
- Lulhanek, V ., Dimov, D.M ., Clin. Chem. Ata 14:619 (1966).
- Szasz, G ., Clin. Chem. 15:124(1969).
- Szasz, G ., Persijin, J.P ., et al, A Klin. Chem. Klin. Biochem. 12:228(1974).
- NCCLS document "Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and tissue", 2nd ed. (1991).
- Rosalki, S.B. , Advances in Clinical Chemistry, Vol. 17, New York, Academic Press, p.53 (1975).
- Wolf, PL. , 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).
- Tiets, N.W. , Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B.Saunders, Philadelphia, PA. ,p1213(1982).
- NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices" 2nd Ed. (1992).
- Arquivos da EBRAM.

	Nome	Assinatura	Data
Elaborado por			
Aprovado por			
Revisado por			
Desativado por			
Razão			