

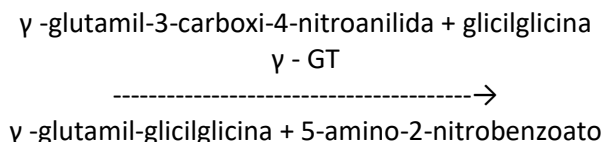
Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMIGAMA – GAMA GT	Página 1 de 4 POP BIOxxx/xx
--------------------------------------	--	--

FINALIDADE

Reação enzimática para determinação quantitativa de Gama-glutamyltransferase (GGT) em amostras de soro e plasma humano. Somente para uso de 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 glutamyl do substrato para glicilglicina formando glutamylglicina 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 casos 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 fanitoína, fenobarbital, acetaminofen interferem na dosagem.

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

REAGENTES

Reagente 1: Pronto para uso. Conservar entre 2 – 8°C. Contém: Glicilglicina 150nM, hidróxido de sódio 130mmol/L;

Reagente 2: Pronto para uso. Conservar entre 2 – 8°C. Contém glutamyl-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 compartilhamento refrigerado do analisador) possuem estabilidade de aproximadamente 21 dias. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminação da 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 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 ou 5 dias de 15 a 25°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 absorbância do branco ultrapassar 1.400 quando medido em 405nm (cuveta de 1cm), se o reagente estiver turvo ou houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco.

AMOSTRA

A Gama-GT é estável no soro e no plasma (EDTA) por 1 semana se mantido entre 2 – 8°C, e pelo menos, 2 meses se congelada.

A amostra só deve ser congelada uma vez. Descartar a amostra caso a mesma apresente indícios de contaminação.

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.

MATERIAL NECESSÁRIO NÃO FORNECIDO

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

PROCEDIMENTO

• Procedimento automático:

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

Aplicação no sistema semiautomático: 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:

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).
2. Separar 3 tubos de ensaio e realizar os procedimentos conforme abaixo:

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

3. Adicionar 1,0 mL do reagente de trabalho em dois tubos 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.
4. Adicionar 40µL do calibrador e 40µL de água destilada em cada tubo

5. Zerar o espectrofotômetro a 405nm com o tubo do branco.
6. 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.
7. Determinar as duas diferenças de absorvância/min (Δ Abs/min), subtraindo cada leitura de sua anterior.
8. 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 influencia no desempenho do teste.

Salientamos que volumes de amostras menores do que 10 μ L aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

CÁLCULOS

(Abs.=Absorbancia)

(Conc. = Concentracao)

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

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

RESULTADOS

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

Adultos:	Mulheres: 9 – 36 U/L Homens: 12 – 64U/L
Crianças/Adolescentes:	
1 dia – 6meses	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: 1 – 39 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 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.
Sensibilidade: 5.34 U/L
- **Interferências:** Amostras coletadas com anticoagulantes contendo citrato, fluoreto ou oxalato inibem a atividade da gama-GT, os quais irão interferir no teste. 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.

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMIGAMA – GAMA GT	Página 4 de 4 POPBIOxxx/xx
--------------------------------------	--	---------------------------------------

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

OBSERVAÇÕES

1. A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
2. 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 enxague da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade $\geq 0,1$ megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxague final utilizar água tipo II.

REFERÊNCIAS

1. Rosalki, S.B. , Advances in Clinical Chemistry, Vol. 17, New York, Academic Press, p.53 (1975).
2. Wolf, PL. ,et al, Practical Clinical Enzymology and Biochemical Profiling, New York, Wiley-Interscience p.37 (1973).
3. Tietz, N.W. , Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B.Saunders, Philadelphia, PA. ,p1213(1982).
4. Young, D.S. Effects of drug on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
5. 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
6. IFCC reference procedures for measurement of catalytic concentrations of enzymes corrigendum, notes and useful advice.Clin Chem Lab Med 2010; 48: 615-621
7. Arquivos da EBRAM.

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

VER Out/20