

# QUIMIGAMA - GAMA-GT

## Amino-nitrobenzoato

ANVISA: 10159820160



### Finalidade

Reação enzimática para determinação quantitativa de Gama- glutamiltransferase (GGT) em amostras de soro e plasma animal. 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 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 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.

### 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:  $\gamma$ - 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 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 de 2 - 8°C ou 5 dias de 15 - 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 absorvância do branco ultrapassar 1400 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
- Cronômetro.

### Amostra

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

#### Cães e Gatos

Jejum recomendado é de 8 a 12 horas (bioquímica) e em filhotes de 4 a 6h podendo beber água. Deixar em repouso por 30 minutos.

#### Bovinos

Jejum geralmente não obrigatório. Evitar estresse pois pode alterar o lactato.

#### Equinos

Jejum geralmente não obrigatório. Evitar estresse pois pode alterar o lactato.

#### Aves

Jejum recomendado de 2 a 4 horas. Evitar estresse do animal.

#### Mamíferos pequenos

Jejum geralmente não recomendado. Evitar estresse do animal.

### Interferências

Amostras coletadas com anticoagulantes contendo citrato, fluoreto ou oxalato inibem a atividade da gama-GT, os quais irão interferir no teste. Bilirrubina até 22,7 mg/dL, Lipemia até 1020 mg/dL medidos como triglicérides e hemoglobina até 1000 mg/dL 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	405nm
Tipo de Reação	Cinética
Direção	Crescente
Relação Amostra/Reativo	1:25
Vol. Amostra	40 $\mu$ L
Vol. R1	1,0mL (800 $\mu$ L R1 + 200 $\mu$ L R2)
Intervalo de leitura	1 minuto
Número de intervalos	2 - 3

### Calibração

Utilizar Quimicalib Ebram cód.7023/12023 que possui a concentração rastreável ao material de referência padrão ERM-AD452/IFCC, 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	Calibrador	Amostra/S.C.
Água destilada	40 $\mu$ L	-	-
Calibrador	-	40 $\mu$ L	-
Amostra/S.C	-	-	40 $\mu$ L
Reagente de trabalho	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

- 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.
- Adicionar 40 $\mu$ L do calibrador e 40 $\mu$ L 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 minuto de intervalo.
- Determinar as duas diferenças de absorvância/min ( $\Delta$  Abs/min), subtraindo cada leitura de sua anterior.
- Determinar a média das diferenças de absorvância ( $\Delta$  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  $\mu$ L aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

### Cálculos

(Abs.=Absorbância)

(Conc. = Concentração)

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

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

### Exemplo:

Absorbância com o Calibrador

$$A1= 0,052 / A2= 0,079 / A3= 0,145$$

$$\Delta \text{ Abs/min} = \frac{(0,079 - 0,052) + (0,145 - 0,079)}{2}$$

Média  $\Delta$  Abs/min (calib) = 0,0465

Média  $\Delta$  Abs/min (amostra) = 0,0204 (calc. I 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 1000 U/L. Amostras com valores superiores a 1000 U/L devem ser diluídas com solução salina a ponto de ficarem entre 2,80 - 1000 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.

Caninos:  $\leq$  10 U/L

Felinos:  $\leq$  10 U/L

Equinos:  $\leq$  35 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 de 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 (mg/dL)	34	86,1	148,2
D.P. (mg/dL)	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 (mg/dL)	34	86,1	148,2
D.P. (mg/dL)	1,3	2,3	2,9
C.V. (%)	3,9	2,8	2,0

### Sensibilidade Metodológica

2,80U/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

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  $\geq$  1 mega ohm ou condutividade  $\leq$  1 microsiemens e concentração de silicatos  $<$  0,1 mg/L (água purificada). Para o enxágue da vidraria a água pode ser purificada, com resistividade  $\geq$  0,1 megaohms ou condutividade  $\leq$  10 microsiemens. No enxágue final também utilizar água purificada.

### Apresentação

Linha Bioquímica Geral: R1= 8 x 10mL + R2= 4 x 5mL

Linha Bulk: R1= 1 x 200mL + R2= 1 x 50mL

### Referência Bibliográfica

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. Tiets, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B.Saunders, Philadelphia, PA., p.1213(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  $\gamma$ -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.

Revisão: Fevereiro de 2026

### Símbolos universais utilizados em embalagens de diagnóstico in vitro

	Consultar instruções de uso		Reagente		Fabricado por
	O conteúdo é suficiente para <n> testes		Data de validade (último dia do mês)		Número do lote
	Limite de temperatura (conservar a)		Produto para diagnóstico in vitro		Número do catálogo
	Uso veterinário				

## Ebram Produtos Laboratoriais Ltda.

Rua Julio de Castilhos, 500 - Belenzinho - São Paulo - SP

Tel.: +55 11 2291 2811 - CEP 03059-001 - Indústria Brasileira

CNPJ.: 50.657.402/0001-31

### Responsável Técnica

Dra. Nadjara Novaes Longen - CRF-SP - 37.451

### SAC Ebram

Para mais informações, entrar em contato com o SAC 0800 500 2424 ou ☎ 11 2574 7110

sac@ebram.com | ebram.com.br

