



QUIMIGAMA - GAMA-GT

Amino-nitrobenzoato

REG. MS: 10159820160

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

Para mais informações, entrar em contato com o **SAC EBRAM**

0800 500 2424 ou ☎ 11 2574 7110

sac@ebram.com | www.ebram.com

Revisão Maio/2022

FINALIDADE. Reação enzimática para determinação quantitativa de Gama- glutamiltransferase (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 glutamilglicina 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: γ - glutamil-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 absorbância do branco ultrapassar 1.400 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 absorbância 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. É recomendado um jejum de 4 horas. Todavia, poderá ser modificado segundo orientação médica.

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
Direção	Crescente
Relação Amostra/Reativo	1:25
Vol. Amostra	40 μ L
Vol. R1	1,0mL (800 μ L R1 + 200 μ 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 μ L	-	-
Calibrador	-	40 μ L	-
Amostra/S.C	-	-	40 μ 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 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 minuto 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)

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

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

EXEMPLO:

Absorvância com o Calibrador

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

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

Média Δ Abs/min (calib) = 0,0465

Média Δ 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.

Adultos

Mulheres: 9 - 36 U/L

Homens: 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 esta-

beleça 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.

- 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 enxágüe da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade ≥ 0,1 megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágüe final utilizar água tipo II.

APRESENTAÇÃO.

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










Linha Quimicat: R1= 2 x 36mL + R2= 1 x 18mL

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

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.

- 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).
- 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.

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