

REF 10219-4 4 x 29 mL / 7 mL

GAMA-GLUTAMIL TRANSFERASE (GGT)

Os frascos em forma de cunha contêm volumes úteis de 29 mL do reagente R1 e 7 mL do reagente R2.

INDICAÇÃO DE USO

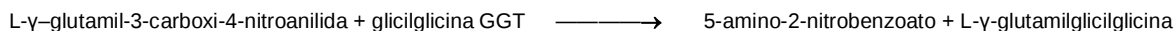
O reagente GGT EasyRA é destinado à determinação quantitativa da atividade da gama-glutamil transferase no soro e plasma humanos (com heparina de lítio como anticoagulante), usando o Analisador Químico Clínico® EasyRA MEDICA. Para uso somente em diagnósticos *in vitro*. Somente para uso profissional.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

A Gama-Glutamil Transferase catalisa a transferência do grupo γ -glutamil de um peptídeo de γ -glutamil para um aminoácido de outro peptídeo. A enzima foi caracterizada e purificada pela primeira vez por Szewczuk e Baromouski.¹ A atividade da GGT no sangue é utilizada para diagnosticar doenças do fígado como cirrose alcoólica e tumores de fígado primários e secundários.² As primeiras medições séricas da γ -GGT envolviam o uso de um substrato relativamente insolúvel de L- γ -glutamil-P-nitroanilida.^{3, 4} Persijn e Van der Slik⁵ modificaram o método utilizando um substrato mais solúvel e estável: a L- γ -glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida. A IFCC (International Federation of Clinical Chemistry) mais tarde modificou o procedimento para medição da GGT no soro.⁶

PRINCÍPIO DO PROCEDIMENTO

O substrato L- γ -glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida (R2) transfere o grupo glutamil para a glicilglicina (R1) na presença da GGT, formando 5-amino-2-nitrobenzoato + L- γ -glutamilglicilglicina.



O produto 5-amino-2-nitrobenzoato é medido por espectrofotometria a 405 nm. A taxa de formação deste componente é diretamente proporcional à atividade da Gama-Glutamil Transferase na amostra.

REAGENTES

Reagente Tampão para GGT (R1):

L-glicilglicina 100 mmol/L
Tampão, pH 8,3 (a 25°C) e conservante.

Reagente Substrato de GGT (R2):

L- γ -glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida 4 mmol/L

PRECAUÇÕES

1. As boas práticas de segurança em laboratórios devem ser seguidas para o manuseio de qualquer reagente (CLSI, GP17-A2).
2. Os reagentes contêm menos de 0,1% de azida de sódio, que pode reagir com tubulações de chumbo e cobre e formar azidas metálicas altamente explosivas. Consulte a Folha de Informações sobre Segurança para informações sobre riscos e medidas de segurança.
3. Como para qualquer procedimento de teste de diagnóstico, os resultados devem ser interpretados considerando-se os resultados de outros testes e o estado clínico do paciente.
4. Não utilize cubetas lavadas.

INSTRUÇÕES DE MANUSEIO, ARMAZENAGEM E ESTABILIDADE DO REAGENTE

O reagente é fornecido pronto para o uso. O reagente permanecerá estável em frasco fechado até a data de validade informada no rótulo desde que armazenado a 2 - 8°C. O reagente permanece estável a bordo na área refrigerada de reagentes do Analisador EasyRA pelo número de dias programado no chip RFID encontrado no frasco. Não utilize o reagente se estiver turvo ou opaco ou se os valores conhecidos para controle de soro não forem obtidos.

COLETA E ARMAZENAGEM/ESTABILIDADE DA AMOSTRA

Utilize amostras de soro e plasma não hemolisadas. Tubos revestidos com heparina de lítio podem ser usados para a coleta de plasma. As amostras de soro e plasma sem conservante devem ser separadas de células e coágulos o quanto antes.

A GGT permanece estável no soro e plasma por 2 dias a 18 - 25°C, 1 semana a 2 - 8°C e 1 mês a -25°C.⁷

PROCEDIMENTO

Materiais Fornecidos

Frasco de Reagente para GGT Medica, REF 10219-4

Materiais adicionais necessários

Controle de Qualidade EasyCQ Medica® – Nível A – Química/Eletrólitos, REF 10793

Controle de Qualidade EasyCQ Medica – Nível B – Química/Eletrólitos, REF 10794

Frasco de Corante Medica para Teste de Precisão, REF 10764

Frasco de Solução de Limpeza Medica – Química e ISE, REF 10660 ou

Frasco de Solução de Limpeza Medica – Química, REF 10661

Instruções de Uso

O reagente é fornecido pronto para o uso. Remova a tampa e coloque o reagente na bandeja do Analisador EasyRA, localizada na área reservada para reagentes. A estabilidade a bordo (60 dias no máximo) encontra-se programada no chip RFID do frasco do reagente.

Observação: Após remover a tampa e colocar o frasco no Analisador EasyRA, verifique se há espuma no interior dos gargalos do frasco. Se houver espuma, remova com um swab ou com uma pipeta descartável antes de executar o teste. Utilize swabs ou pipetas descartáveis separadas para R1 e R2.

Calibração

Não aplicável.

Controle de Qualidade

Recomenda-se a execução de dois níveis de controle baseado em soro humano (normal e anormal) junto com a análise diariamente, sempre que forem executados testes de paciente, e a cada troca de lote de reagente. A não obtenção de valores dentro do intervalo adequado a partir da análise do material de controle pode indicar deterioração do reagente, mau funcionamento do instrumento ou erros de procedimento. O laboratório deve seguir as diretrizes municipais, estaduais e federais de controle de qualidade ao usar materiais de controle de qualidade.

Resultados

Após a finalização da análise, o Analisador EasyRA calcula a concentração de GGT a partir da alteração de absorbância por minuto, volume da amostra, volume total de reação, comprimento de trajetória (cm) de 0,6 e absorvidade molar de 9,5.

$$\text{GGT (U/L)} = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{Volume total}(\mu\text{L}) \times 1000)}{(\text{Absorvidade molar} \times \text{Comp. trajetória}(\text{cm}) \times \text{Volume de amostra}(\mu\text{L}))}$$

A unidade por litro (U/L) de atividade da GGT representa a quantidade de enzima que produz um $\mu\text{mol/L}$ de NADH por minuto.

Valores Esperados⁷

O intervalo de referência para GGT em soro e plasma é o seguinte:

Adultos do Sexo Masculino: 9 - 52 U/L (a 37°C)

Adultos do Sexo Feminino: 5 - 32 U/L (a 37°C)

Esses valores são orientativos. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de valores esperados, considerando-se as diferenças entre os instrumentos, as instalações laboratoriais e as populações locais.

Limitações do Procedimento (por exemplo, amostra ultrapassa o intervalo do exame)

Se a Alteração de Absorbância por Minuto ($\Delta A/\text{Min}$) for maior do que 0,1357, o que corresponde a aproximadamente 1000 U/L, os resultados serão sinalizados como “SD” (esgotamento de substrato) pelo analisador. Se o ícone de novo teste for selecionado pelo operador, a amostra poderá ser testada novamente usando metade (1/2) do volume da amostra. Os resultados do novo teste são calculados para refletir o uso de um volume menor da amostra. Isso irá estender o intervalo reportável do teste de GGT até 2000 U/L.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO⁸

Intervalo reportável

O intervalo reportável vai de 7 a 1000 U/L. O intervalo estendido vai de 7 a 2000 U/L quando metade da amostra é usada (diluição 1:1).

Inexatidão/Correlação (CLSI, EP9-A2)

A tabela a seguir lista os dados obtidos em uma comparação do desempenho do Reagente para GGT Medica (y) no Analisador EasyRA utilizando um comprimento de onda primário de 405 nm apenas com o desempenho do mesmo reagente para GGT (x) no Analisador EasyRA utilizando um comprimento de onda primário de 405 nm e um comprimento de onda secundário de 700nm. Os dados mostrados abaixo representam determinações avulsas utilizando um comprimento de onda primário e um comprimento de onda secundário no Analisador EasyRA em comparação com a média entre dois valores replicados obtidos utilizando um comprimento de onda primário no Analisador EasyRA.

Número de amostras	47	Intervalo de amostras	10 a 903 U/L
Declive	1,0213	Intercepta y	-0,9888
Coefficiente de Correlação	0,9999	Equação de regressão	$Y = 1,0213 \cdot X - 0,9888$

A tabela a seguir lista os dados obtidos em uma comparação entre amostras de soro (x) e plasma li-heparinizado (y) correspondentes usando o Reagente Medica para GGT no Analisador EasyRA. Os dados abaixo representam uma única determinação de plasma em comparação à média de dois valores de soro replicados.

Número de amostras	80	Intervalo de amostras	10 - 1057 U/L
Declive	1,0319	Intercepta y	-3,8998
Coefficiente de correlação	0,9997	Equação de regressão:	$Y = 1,0319 \cdot X - 3,8998$

Imprecisão (CLSI, EP5-A2)

Medições duplicadas de cada um dos três níveis do material foram testadas duas vezes ao dia, por 20 dias. Tanto a precisão durante a rodada quanto a precisão total foram determinadas a partir desses dados.

Imprecisão em uma mesma rodada:

Nível U/L	SD na Rodada U/L	CV na Rodada %
88	1,0	1,2
61	1,0	1,7
34	0,9	2,5

Imprecisão Total:

Nível U/L	SD de Imprecisão Total U/L	CV de Imprecisão Total %
88	1,9	2,1
61	1,5	2,4
34	1,0	3,0

Linearidade (NCCLS, EP6-A)

Linear de 7 a 1000 U/L, com base na equação de regressão linear $Y = 1,0126 \cdot X + 0,6421$.

Limite de branco (LOB):	4,0 U/L	(CLSI, EP17-A)
Limite de detecção (LOD):	5,3 U/L	(CLSI, EP17-A)
Limite de quantificação (LOQ):	6,6 U/L	(CLSI, EP17-A, modificado)

Substâncias Interferentes (CLSI, EP7-A)

Interferência de até 10% foi classificada como "nenhuma interferência significativa".

A hemoglobina interfere, mesmo em concentrações mínimas. Não utilize amostras hemolisadas.

Nenhuma interferência significativa foi observada em níveis de até 35 mg/dL de bilirrubina.

Nenhuma interferência significativa foi observada em níveis de até 20 mg/dL de bilirrubina direta.

Nenhuma interferência significativa foi observada em níveis de até 667 mg/dL de triglicérides (usando Intralipid*).

*Intralipid é uma marca registrada de Pharmacia AB, Clayton, NC.

Young fornece uma lista de medicamentos e outras substâncias que podem interferir em testes clínicos químicos.^{9, 10}

REFERÊNCIAS

1. Szewczuk, A. and Baranowski, T. Purification and Properties of γ -glutamyl Transpeptidase from Beef Kidney, *Biochem. Z.* 338, 317-329 (1963).
2. Burtis, C.A., Ashwood, E.R. (Eds.), *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, W.B Saunders, Toronto, (1994) pp 848-849.
3. Orłowski M, Meister A. *Biochem Biophys Acta* 1963; 73:679.
4. Szasz, G., Reaction Rate Method for γ -glutamyltransferase Activity in Serum, *Clin.Chem.* 1976 ;22: 2051-2055.
5. Persijn, J.P. and Van der Slik, W., A New Method for the Determination of γ -glutamyltransferase in serum, *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1976;14: 421-427.

6. Shaw, L.M., Stromme, J.H. et al., IFCC Method for γ -glutamyltransferase, *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1983; 21: 633.
7. Kaplan, Lawrence and Pesce, Amadeo J. (Ed), *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation*, Mosby-Year Book Inc, St Louis Missouri, (1996) p 1072.
8. Dados arquivados na Medica.
9. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995.
10. Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC. AACC Press; 1997.

Parâmetros de Análise do EasyRA (GGT)

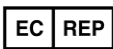
Comprimento de Onda Primário (nm)	405
Comprimento de Onda Secundário (nm)	700
Tipo de Reação	Enzimática (0)
Direção de Reação	Crescente
Branco de Reagente	Não
Branco de Amostra	Não
Alter. de Abs. máx. de 1º int.	0,054
Tempo de Reação	7,2 min
Intervalo de calibração (máximo)	N/D
Estabilidade a bordo do reagente	60 dias

Soro/plasma

Volume de amostra (μ l)	5,0
Volume de diluente (μ l)	40
Volume do reagente R1 (μ l)	132
Volume do reagente R2 (μ l)	33
Casas Decimais (padrão)	0
Unidades (valores padrão)	U/L
Fator de Diluição	1:1 (para extensão do intervalo de medição)
Linearidade	7 a 1000 U/L
Absortividade Molar	9,50



Medica Corporation, 5 Oak Park Drive
Bedford, MA 01730-1413 USA



Emergo Europe, Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague, The Netherlands