

REF 10219-4 4 x 29 mL / 7 mL

GAMMA GLUTAMIL TRANSFERASA (GGT)

Cada compartimiento contiene una cantidad utilizable de 29 mL de reactivo R1 y 7 mL de reactivo R2.

USO PREVISTO

El reactivo de GGT EasyRA se utiliza para la determinación cuantitativa de la actividad de gama glutamil transferasa en suero humano (con heparina de litio como anticoagulante), con el "análizador de química clínica EasyRA® Chemistry" de MEDICA. Utilizar únicamente para diagnóstico *in vitro*. Solo para uso profesional.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La gamma-glutamyl transferasa cataliza la transferencia del grupo γ -glutamyl de un péptido γ -glutamyl a un aminoácido de otro péptido. La enzima fue inicialmente caracterizada y purificada por Szewczuk y Baromouski.¹ La actividad de la GGT en la sangre se utiliza para diagnosticar enfermedades hepáticas como la cirrosis alcohólica y tumores del hígado primario y secundario.² Anteriormente, la medición del valor de γ -GGT en suero involucraba el uso del sustrato relativamente insoluble L- γ -glutamyl-P-nitroanilida.^{3,4} Persijn y Van der Slik⁵ modificaron este método al utilizar un sustrato más soluble y más estable: L- γ -glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida. La Federación Internacional de Química Clínica (IFCC, por sus siglas en inglés) modificó aún más este procedimiento para la medición de GGT en suero.⁶

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El sustrato L- α -glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida (R2) transfiere su grupo glutamyl a glicilglicina (R1) en presencia de GGT, formando 5-amino-2-nitrobenzoato + L- α -glutamylglicilglicina.

L- γ -glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida + glicilglicina $\xrightarrow{\text{GGT}}$ 5-amino-2-nitrobenzoato + L- γ -glutamylglicilglicina

El producto 5-amino-2-nitrobenzoato se mide espectrofotométricamente a 405 nm. La tasa de formación de este compuesto es directamente proporcional a la actividad de gama-glutamyl transferasa en la muestra.

REACTIVOS

Reactivo buffer GGT (R1):

L-glicilglicina 135 mmol/L
Buffer, pH 8,3 (a 25° C) y un conservante.

Reactivo sustrato GGT (R2):

L- γ -glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida, pH 6,00 22 mmol/L

PRECAUCIONES

1. Se deben seguir buenas prácticas de seguridad en el laboratorio cuando se manipula cualquier reactivo. (CLSI, GP17-A3).
2. Los reactivos contienen menos de 0,1 % de azida sódica que puede reaccionar al entrar en contacto con tubos de plomo y cobre y formar azidas de metal altamente explosivas. Consulte la hoja de datos de seguridad para obtener información sobre los riesgos, el peligro y la seguridad.
3. Como en todos los casos de procedimientos de evaluación de diagnóstico, los resultados se deben interpretar teniendo en cuenta todos los otros resultados de las evaluaciones y el estado clínico del paciente.
4. No utilice cubetas lavadas.

INSTRUCCIONES PARA LA MANIPULACIÓN, EL ALMACENAMIENTO Y LA ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

El reactivo está listo para usar. El reactivo que no fue abierto es estable hasta la fecha de vencimiento indicada en la etiqueta si se almacena a 2 - 8 °C. El reactivo es estable una vez cargado en el analizador de química clínica EasyRA por la cantidad de días programados en el chip RFID que se encuentra en el compartimiento del reactivo. No use el reactivo si se encuentra turbio o nebuloso o si no logra obtener valores de control de suero conocidos. Proteja de la luz.

RECOLECCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA/ESTABILIDAD

Utilice suero y plasma libre de hemólisis significativa. Se pueden utilizar tubos recubiertos de heparina de litio para la recolección de plasma. Las muestras de suero y plasma sin conservante deben extraerse de las células y de los coágulos lo antes posible. El GGT en suero y plasma es estable por 2 días a 18 - 25 °C, por 1 semana a 2 - 8 °C y por 1 mes a -25 °C.⁷

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados

Compartimiento de Reactivo GGT (Medica Amylase Reagent Wedge), REF 10219-4

Materiales adicionales necesarios

Medica EasyQC® Chemistry/Electrolytes – Nivel A, REF 10793

Medica EasyQC® Chemistry/Electrolytes – Nivel B, REF 10794

Método de diagnóstico Dye Test – Medica Precision Test Dye Wedge, REF 10764

Medica Cleaner Wedge – Chemistry & ISE, REF 10660 o

Medica Cleaner Wedge – Chemistry, REF 10661

Instrucciones de uso

El reactivo está listo para usar. Retire la tapa del reactivo y colóquelo en la bandeja para el reactivo del analizador de química clínica EasyRA ubicada en el área de los reactivos. Una vez en el compartimiento, la estabilidad del reactivo (máximo 60 días) se programa en el chip RFID del compartimiento de reactivos.

Nota: verifique que no haya espuma en la parte interna del cuello del compartimiento después de retirar las tapas y colocar el compartimiento en el analizador de química clínica EasyRA. Si encuentra espuma, retírela con un hisopo o una pipeta desechable antes de realizar el análisis. Utilice distintos hisopos o pipetas desechables para los R1 y R2.

Calibración

No corresponde.

Control de calidad

Se recomienda llevar a cabo dos niveles de control del suero humano (normal y anormal) en el ensayo todos los días cuando se realiza el análisis del paciente y con cada cambio de lote del reactivo. Si en el ensayo del material de control no se obtienen los rangos de valores correctos, esto es indicador de deterioro del reactivo, un mal funcionamiento del instrumento o errores de procedimiento. Cuando se utilizan materiales de control de calidad, el laboratorio debe cumplir con las normas de control de calidad locales, estatales y federales.

Resultados

Al finalizar el ensayo, el analizador de química clínica EasyRA, calcula la concentración de GGT a partir de la variación de absorbancia por minuto, el volumen de la muestra, el volumen de reacción total, la longitud de trayectoria (cm) de 0,6 y la absorptividad molar de 9,5.

$$\text{GGT (U/L)} = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{VolumenTotal}(\mu\text{l}) \times 1000)}{(\text{AbsortividadMolar} \times \text{PasodeLuz}(\text{cm.}) \times \text{VolumendelaMuestra}(\mu\text{l}))}$$

Una unidad por litro (U/L) de actividad de GGT es la cantidad de enzima que produce una $\mu\text{mol/L}$ de NADH por minuto.

VALORES ESPERADOS⁷

El rango de referencia para la GGT en suero y plasma es el siguiente:

Masculino Adulto: 9 - 52 U/L (a 37 °C)

Femenino Adulto: 5 - 32 U/L (a 37 °C)

Estos valores son de referencia. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de valores debido a las diferencias que existen entre los instrumentos, los laboratorios y la población local.

Limitaciones en los procedimientos (por ejemplo: si la muestra está por encima del rango del ensayo)

Si la variación de absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{Min}$) es superior a 0,1357, que corresponde aproximadamente a 1000 U/L, los resultados se marcarán como "SD" (depleción de sustrato). Si el operador selecciona el icono "Re-run", se puede volver a probar la muestra usando la mitad (1/2) del volumen de muestra. Los resultados de los análisis repetidos se calculan para que reflejen el uso de un volumen inferior de muestra. Esto aumentará el rango a reportar del análisis de GGT hasta 2000 U/L.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO⁸

Rango a reportar

El rango a reportar es de 7 hasta 1000 U/L. El rango extendido es de 7 hasta 2000 U/L cuando se utiliza la mitad de la muestra (dilución 1:1).

Inexactitud/Correlación (CLSI, EP09-A2)

La tabla a continuación detalla los datos obtenidos en una comparación sobre el rendimiento del reactivo Medica para GGT (y) en el analizador de química clínica EasyRA utilizando una longitud de onda primaria de 405 nm solamente con el rendimiento del mismo reactivo GGT (x) en el analizador de química clínica EasyRA utilizando una longitud de onda primaria de 405 nm y una longitud de onda secundaria de 700 nm. Los datos que se muestran a continuación representan determinaciones únicas obtenidas utilizando una longitud de onda primaria y una longitud de onda secundaria en el analizador de química clínica EasyRA versus el promedio de dos valores replicados obtenidos utilizando una longitud de onda primaria en el analizador de química clínica EasyRA.

Número de muestras	47	Rango de muestras	10 hasta 903 U/L
Curva	1,0213	Interceptación con y	-0,9888
Correlación coeficiente	0,9999	Ecuación de regresión	$Y = 1,0213 * X - 0,9888$

La tabla a continuación detalla los datos obtenidos en una comparación de las muestras de suero pareado (x) y de plasma heparinizado con litio usando el reactivo de GGT Medica en el analizador de química clínica EasyRA. Los datos que se muestran a continuación representan determinaciones únicas de plasma vs. el promedio de dos valores replicados de suero.

Número de muestras	80	Rango de muestras	10 hasta 1057 U/L
Curva	1,0319	Interceptación con y	-3,8998
Correlación coeficiente	0,9997	Ecuación de regresión	$Y = 1,0319 * X - 3,8998$

Imprecisión (CLSI, EP05-A2).

Las medidas duplicadas de cada uno de los tres niveles del material de control de calidad se analizaron dos veces al día durante 20 días. Ambas ejecuciones de precisión están dentro de y la precisión total fue determinada de estos datos.

Dentro de la imprecisión corriente:

Nivel	Dentro de la depleción de sustrato actual	Dentro del CV
U/L	U/L	%
88	1,0	1,2
61	1,0	1,7
34	0,9	2,5

Imprecisión total:

Nivel de control de calidad	Imprecisión total de depleción de sustrato	Imprecisión total del CV
U/L	U/L	%
88	1,9	2,1
61	1,5	2,4
34	1,0	3,0

Linealidad (CLSI, EP06)

Lineal desde 7 a 1000 U/L, con base en la ecuación de regresión lineal $Y = 1,0126 * X + 0,6421$.

Límite del blanco (LOB):	4,0 U/L	(CLSI, EP17-A)
Límite de detección (LOD):	5,3 U/L	(CLSI, EP17-A)
Límite de cuantificación (LOQ):	6,6 U/L	(CLSI, EP17-A)

Sustancias de interferencia (CLSI, EP07)

Menos del 10 % de interferencia fue clasificado como "interferencia no significativa".

La hemoglobina interfiere, incluso en concentraciones mínimas. No use muestras hemolizadas.

No se encontraron interferencias significativas en niveles de hasta 35 mg/dL de bilirrubina total.

No se encontraron interferencias significativas en niveles de hasta 20 mg/dL de bilirrubina directa.

No se encontraron interferencias significativas en niveles de hasta 667 mg/dL de triglicéridos (con Intralipid*).

No se encontraron interferencias significativas en niveles de hasta 30 mg/dL de ácido ascórbico.

*Intralipid es una marca registrada de Pharmacia AB, Clayton, NC.

Young provee una lista de drogas y otras sustancias que interfieren con los análisis de química clínica.^{9, 10}

REFERENCIAS

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 Bioph 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. Datos de los archivos de 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.

PARÁMETROS DEL ENSAYO (GGT) EASYRA

Longitud de onda primaria (nm)	405
Longitud de onda secundaria (nm)	700
Tipo de reacción	Enzima (0)
Dirección de la reacción	Aumento
Blanco del reactivo	No
Blanco de la muestra	No
Variación máxima del primer intervalo de absorbancia	0,055
Tiempo de reacción	7,2 min.
Intervalo de calibración (máximo)	N/A
Estabilidad integrada del reactivo	60 días

Suero/plasma

Volumen de la muestra (µl)	5,0
Volumen del diluyente (µl)	40
Volumen del reactivo R1 (µl)	132
Volumen del reactivo R2 (µl)	33
Puntos decimales (predeterminados)	0
Unidades (valores predeterminados)	U/L
Factor de dilución	1:1 (para extender el rango de medición)
Linealidad	7 hasta 1000 U/L