

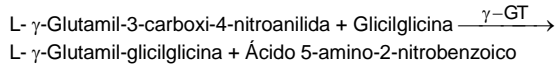
Determinação quantitativa de gamma-glutamil transferase (γ - GT)

IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCÍPIO DO MÉTODO

A gamma-glutamil transferase (γ-GT) cataliza a transferência de um grupo γ-glutamil da γ-glutamil-p-nitroanilida para o dipéptido receptor glicilglicina, de acordo com a seguinte reacção:



A velocidade de formação do ácido 5-amino-2-nitrobenzoico, determinado fotométricamente, é proporcional à concentração catalítica de γ-GT na amostra testada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A gamma-glutamil transferase (γ-GT) é uma enzima que está presente em quase todos os tecidos do organismo, sendo particularmente elevada no fígado, pâncreas, rins e próstata.

A determinação dos níveis de gamma-glutamil transferase (γ-GT) é o método mais útil para o diagnóstico e tratamento das patologias hepatobiliares tais como obstrução hepática, cirrose ou tumores hepáticos^{1,2,5,6}.

O diagnóstico clínico deve ser feito tendo em conta todos os dados clínicos e laboratoriais.

REAGENTES

R 1 Tampão	TRIS pH 8,25	100 mmol/L
R 2 Substrato	Glicilglicina L-γ-glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida	100 mmol/L 3 mmol/L

PREPARAÇÃO

Reagente de trabalho (RT):

Ref: 1001185

Dissolver (→) um comprimido de R 2 Substrato num frasco de R 1

Tampão.

Ref: 1001186

Dissolver (→) um comprimido de R 2 Substrato em 15 mL de R 1

Tampão

Ref: 1001187

Dissolver (→) o conteúdo de um frasco de R 2 Substrato em 50 mL de R 1.

Tapar e misturar suavemente até dissolução do conteúdo.

Estabilidade: 21 dias a 2-8°C ou 5 dias à temperatura ambiente (15-25°C).

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis, até ao final do prazo de validade indicado no rótulo, quando mantidos nos frascos bem fechados, a 2-8°C, protegidos da luz e evitando a sua contaminação.

Não usar os comprimidos se eles estiverem fragmentados.

Não usar reagentes após a data indicada.

Indicadores de deterioração dos reagentes:

- Presença de partículas e turvação.
- Absorvâncias do branco a 405 nm \geq 1,20.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro ou analisador para leituras a 405 nm.
- Banho termoestável a 25°C, 30°C ou 37°C (\pm 0,1°C)
- Cuvetes de 1,0 cm de passo de luz.
- Equipamento habitual de laboratório.

AMOSTRAS

Soro¹. A γ-GT é estável até 3 dias a 2-8°C, 8 horas a 15-25°C e 1 mês a -20°C.

PROCEDIMENTO

1. Condições do ensaio:

Comprimento de onda: 405 nm
Cuvete: 1 cm passo de luz
Temperatura constante 25°C / 30°C / 37°C

2. Ajustar o espectrofotómetro a zero frente a água destilada ou ar.

3. Pipetar para uma cuvette:

RT (mL)	1,0
Amostra (μL)	100

4. Misturar, esperar 1 minuto.

5. Ler a absorvância (A) inicial da amostra, pôr o cronómetro em funcionamento

e ler a absorvância a cada minuto durante 3 minutos.

6. Calcular a média do aumento de absorvância por minuto ($\Delta A/\text{min}$).

CÁLCULOS

$$\Delta A/\text{min} \times 1190 = \text{U/L de } \gamma\text{-GT}$$

Unidades: A unidade internacional (UI) é a quantidade de enzima que converte 1 μmol de substrato por minuto, em condições standardizadas. A concentração é expressa em unidades por litro (U/L).

Factores de conversão de temperaturas

Os resultados podem ser transformados a outras temperaturas multiplicando por:

Temperatura de medição	Factor para converter a		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,37	1,79
30°C	0,73	1,00	1,30
37°C	0,56	0,77	1,00

CONTROLO DE QUALIDADE

É conveniente analisar juntamente com as amostras, os soros controlo valorizados: SPINTROL H Normal e Patológico (Ref. 1002120 e 1002210).

Se os valores determinados estiverem fora do intervalo de tolerância, verificar o equipamento, os reagentes e o calibrador.

Cada laboratório deve dispor do seu próprio Controlo de Qualidade e estabelecer correções caso os controlos não cumpram com as tolerâncias.

VALORES DE REFERENCIA¹

	25°C	30°C	37°C
Mulheres	4-18 U/L	5-25 U/L	7-32 U/L
Homens	6-28 U/L	8-38 U/L	11-50 U/L

Estes valores são orientativos. É recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO

Intervalo de medida: Desde o limite de detecção 0,000 U/L até ao limite de linearidade 375 U/L.

Se a concentração da amostra for superior ao limite de linearidade, diluir 1/10 com NaCl 9 g/L e multiplicar o resultado final por 10.

Precisão:

Média (U/L)	Intrasérie (n= 20)		Intersérie (n= 20)	
	40,0	199	41,6	200
DP	0,33	1,20	0,80	2,29
CV (%)	0,83	0,61	1,91	1,15

Sensibilidade analítica: 1 U/L = 0,0008 $\Delta A/\text{min}$.

Exactidão: Os reagentes SPINREACT (γ) não amostram diferenças sistemáticas significativas quando se comparam com outros reagentes comerciais (x).

Os resultados obtidos com 50 amostras foram os seguintes:

Coefficiente de regressão (r): 0,999.

Equação da recta de regressão: $y = 1,2253x - 2,0435$.

As características do método podem variar segundo o equipamento utilizado.

INTERFERÊNCIAS

Não utilizar plasma. Os anticoagulantes inibem a enzima. Uma hemólise elevada interfere no ensaio¹. Foram descritas várias drogas e outras substâncias que interferem na determinação da γ-GT^{3,4}.

NOTAS

SPINREACT dispõe de instruções detalhadas para a aplicação deste reagente em diferentes equipamentos.

BIBLIOGRAFÍA

- Gendler S. γ-GT. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1120-1123.
- Persijn J P et al. J Clin Chem Clin Biochem 1976; (14) 9: 421-427.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

APRESENTAÇÃO

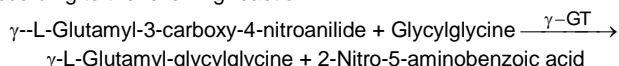
Ref: 1001185	Cont.	R1: 20 x 2 mL, R2: 20 → 2 mL
Ref: 1001186		R1: 1 x 150 mL, R2: 10 → 15 mL
Ref: 1001187		R1: 10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL

Quantitative determination of gamma-glutamyl transferase (γ-GT) IVD

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

Gamma-glutamyl transferase (γ-GT) catalyses the transfer of γ-glutamyl group from γ-glutamyl-p-nitroanilide to acceptor glycylglycine, according to the following reaction:



The rate of 2-nitro-5-aminobenzoic acid formation, measured photometrically, is proportional to the catalytic concentration of γ-GT present in the sample^{1,2}.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Gamma-glutamyl transferase (γ-GT) is a cellular enzyme with wide tissue distribution in the body, primarily in the kidney, pancreas, liver and prostate.

Measurements of gamma-glutamyl transferase (γ-GT) activity are used in the diagnosis and treatment of hepatobiliary diseases such as biliary obstruction, cirrhosis or liver tumours^{1,2,5,6}.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

R 1 Buffer	TRIS pH 8.25	100 mmol/L
R 2 Substrate	Glycylglycine L-γ-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide	100 mmol/L 3 mmol/L

PREPARATION

Working reagent (WR):

Ref: 1001185.

Dissolve (→) one tablet of R 2 Substrate in one vial of R 1 Buffer.

Ref: 1001186.

Dissolve (→) one tablet of R 2 Substrate in 15 mL of R 1 Buffer.

Ref: 1001187.

Dissolve (→) the contents of R 2 Substrate in 50 mL of R 1 Buffer.

Cap and mix gently to dissolve contents.

Stability: 21 days at 2-8°C or 5 days at room temperature (15-25°C).

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use the tablets if appears broken.

Do not use reagents over the expiration date.

Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.

- Blank absorbance (A) at 405 nm ≥ 1,20.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 405 nm.

- Thermostatic bath at 25°C, 30°C or 37°C (± 0.1°C)

- Matched cuvettes 1.0 cm light path.

- General laboratory equipment.

SAMPLES

Serum¹. γ-GT is stable for at least 3 days at 2-8°C, 8 hours at 15-25°C and 1 month at -20°C.

PROCEDURE

1. Assay conditions:

Wavelength: 405 nm

Cuvette: 1 cm light path

Constant temperature 25°C / 30°C / 37°C

2. Adjust the instrument to zero with distilled water or air.

3. Pipette into a cuvette:

WR (mL)	1.0
Sample (μL)	100

4. Mix, wait for 1 minute.

5. Read initial absorbance (A) of the sample, start the stopwatch and read absorbances at 1 minute intervals thereafter for 3 minutes.

6. Calculate the difference between absorbances and the average absorbance differences per minute (ΔA/min).

CALCULATIONS

$$\Delta A/\text{min} \times 1190 = \text{U/L of } \gamma\text{-GT}$$

Units: One international unit (IU) is the amount of enzyme that transforms 1 μmol of substrate per minute, in standard conditions. The concentration is expressed in units per litre of sample (U/L).

Temperature conversion factors

To correct results to other temperatures multiply by:

Assay temperature	Conversion factor to		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,37	1,79
30°C	0,73	1,00	1,30
37°C	0,56	0,77	1,00

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINTROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and technique for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES¹

	25°C	30°C	37°C
Women	4-18 U/L	5-25 U/L	7-32 U/L
Men	6-28 U/L	8-38 U/L	11-50 U/L

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: From detection limit of 0,000 U/L to linearity limit of 375U/L.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/10 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 10.

Precision:

	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
Mean (U/L)	40,0	199	41,6	200
SD	0,33	1,20	0,80	2,29
CV (%)	0,83	0,61	1,91	1,15

Sensitivity: 1 U/L = 0,0008 ΔA/min.

Accuracy: Results obtained using SPINREACT reagents (γ) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).

The results obtained using 50 samples were the following:

Correlation coefficient (r): 0,999

Regression equation: y = 1,2253x - 2,0435.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES

Plasma should not be used, anticoagulants inhibit the enzyme. Gross haemolysis interferes in the assay¹. A list of drugs and other interfering substances with γ-GT determination has been reported^{3,4}.

NOTES

SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.

BIBLIOGRAPHY

- Gendler S. γ-GT. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1120-1123.
- Persijn J P et al. J Clin Chem Clin Biochem 1976; (14) 9: 421-427.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PACKAGING

Ref: 1001185	Cont.	R1: 20 x 2 mL, R2: 20 → 2 mL
Ref: 1001186		R1: 1 x 150 mL, R2: 10 → 15 mL
Ref: 1001187		R1: 10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL

