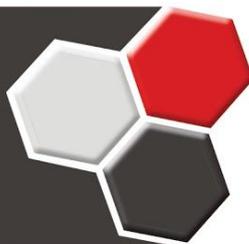


# Gama GT

Kit para determinação da gama-glutamyltransferase (Gama GT) por metodologia cinética-colorimétrica.

REF. 461

MS 80022230076



## Analisa

### MÉTODO

Cinético-Colorimétrico.

### FINALIDADE

Reagentes para determinação quantitativa da atividade da gama-glutamyltransferase (Gama GT) no soro ou plasma.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

### FUNDAMENTO

A gama-glutamyltransferase (Gama GT) catalisa a transferência do grupamento gamaglutamil da gamaglutamil-3-carboxi-4-nitroanilida para a glicilglicina liberando gamaglutamilglicilglicina e p-nitroanilina.

A p-nitroanilina apresenta elevada absorção em 405 nm e a quantidade liberada é diretamente proporcional à atividade da Gama GT na amostra.

A atividade catalítica é determinada a partir da velocidade de formação da p-nitroanilina.



### SIGNIFICADO CLÍNICO

A Gama GT é uma enzima encontrada em concentração relativamente alta nos rins, pâncreas, fígado e próstata. É um sensível indicador de doenças inflamatórias e de lesão hepática, estando significativamente elevada nas doenças obstrutivas hepatobiliares. A Gama GT tem maior especificidade que a fosfatase alcalina (ALP) e a TGO (AST) para avaliar doença hepática porque ela não se eleva na doença óssea como a ALP e nem nas doenças do músculo esquelético como a transaminase oxalacética (TGO).

A determinação da Gama GT serve para diferenciar colestases mecânica e viral das induzidas por drogas. Nas duas primeiras, a Gama GT e ALP estão igualmente elevadas. Nas colestases induzidas por drogas os valores da Gama GT são muito mais altos.

Os níveis de Gama GT encontram-se altos em pacientes que fazem uso prolongado de drogas que induzem o sistema microsomal hepático como o fenobarbital, fenitoína, entre outras.

Valores elevados de Gama GT em pacientes anictéricos com câncer são um seguro indicador de metástases hepáticas.

A Gama GT é muito sensível na seleção de alcoólatras. No alcoolismo crônico, os níveis séricos da Gama GT diminuem com a retirada do álcool e se elevam com a exposição ao mesmo. Com base nesta observação, a dosagem da Gama GT é utilizada nos centros de tratamentos de alcoólatras para documentar o sucesso da terapia e identificar os pacientes que retomaram ao alcoolismo após a alta.

### QUALIFICAÇÕES DO PRODUTO

- Metodologia cinética contínua e de tempo fixo de fácil aplicação em analisadores automáticos e semi-automáticos.
- O produto emprega reagentes líquidos, possibilitando o preparo do volume de Reagente de Trabalho de acordo com a demanda do laboratório.
- A metodologia permite obter resultados exatos e precisos se for executada conforme descrita nesta Instrução de Uso.

### IDENTIFICAÇÃO DOS REAGENTES

Conservar entre 2-8 °C.

1. **Tampão** - Contém glicilglicina 197 mmol/L e azida sódica 14,6 mmol/L.
2. **Substrato** - Contém gama-glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida 21 mmol/L e azida sódica 14,6 mmol/L.
3. **Padrão** - Equivale a 125 U/L. Contém p-nitroanilina 500 µmol/L e azida sódica 14,6 mmol/L.

O Padrão se aplica à metodologia cinética de tempo fixo.

### ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até o vencimento da data de validade impressa no rótulo do produto e na caixa quando conservados na temperatura recomendada, bem vedados e se evite a contaminação durante o uso.

### Sinais de Deterioração dos Reagentes

1. Presença de particuladas e turbidez indicam deterioração dos reagentes.
2. A absorvância do Reagente de Trabalho em 405 nm deverá ser inferior a 1,5 durante toda a sua utilização ou até a expiração da data de validade do mesmo.

### MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

- Fotômetro com cubeta termostatizada em 37 °C para método cinético contínuo;
- Banho-maria a 37°C para método cinético de tempo fixo;
- Solução de ácido acético a 5% v/v para método cinético de tempo fixo;
- Tubos e pipetas;
- Cronômetro.

### PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes e amostra biológica.
- Recomendamos o uso das Boas Práticas em Laboratório Clínico para a execução do teste.
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes.

- Os reagentes contêm azida sódica como conservante. Evitar contato com os olhos, pele e mucosa. Não aspirar ou ingerir.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.

### AMOSTRA

SORO ou PLASMA (EDTA).

O analito é estável 5 dias entre 2-8 °C.

**Nota:** Recomendamos que a coleta, preparação, armazenamento e descarte das amostras biológicas sejam realizadas seguindo as recomendações das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Enfatizamos que os erros provenientes da amostra podem ser muito maiores do que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

### INFLUÊNCIAS PRÉ-ANALÍTICAS

Nas mulheres, a atividade da Gama GT é mais baixa do que nos homens de mesma idade.

A ingestão de álcool aumenta consideravelmente a atividade da Gama GT.

Valores falsamente elevados de Gama GT foram observados em pacientes tomando drogas anti-convulsivantes.

### PROCEDIMENTO DO TESTE

#### Preparo do Reagente de Trabalho

De acordo com o consumo, misturar suavemente os reagentes 1 e 2 na seguinte proporção: 4 volumes de Tampão (1) mais 1 volume de Substrato (2). O Reagente de Trabalho é estável por 21 dias entre 2-8°C.

#### Técnica de Análise sem Padrão - Método cinético contínuo.

1. Pipetar na cubeta ou tubo:

Reagente de Trabalho	1000 µL
Amostra	50 µL

2. Homogeneizar, inserir a cubeta no porta-cubetas termostatizado a 37°C e acionar o cronômetro.

3. Após 1 minuto, fazer a leitura da absorvância inicial ( $A_0$ ).

4. Fazer novas leituras de absorvância, após exatamente 1, 2 e 3 minutos.

5. As diferenças entre as absorvâncias ( $\Delta A/\text{minuto}$ ) devem ser praticamente iguais, indicando a linearidade do método.

6. Calcular o aumento de absorvância médio por minuto ( $\Delta A/\text{minuto}$  médio).

#### Cálculos

Ver Linearidade.

Considerando que o coeficiente de absorção milimolar da p-nitroanilina é 8,235 em 405 nm deduz-se a seguinte fórmula para calcular a atividade catalítica:

U/L de Gama GT =  $\Delta A/\text{minuto}$  médio x 2550

Onde  $\Delta A/\text{minuto}$  = Variação média da absorvância por minuto.

#### Exemplo

Se  $\Delta A/\text{minuto}$  médio do Teste = 0,022

U/L de Gama GT = 0,022 x 2550

U/L de Gama GT = 56 U/L

#### Cálculo do Fator

Fator =  $(Vt \times 1000) \div (\epsilon \times Va \times d)$

Vt = Volume total do ensaio = 1050 µL

Va = Volume de amostra = 50 µL

1000 = Conversão U/mL para U/L

d = espessura da cubeta, via da luz = 1 cm

$\epsilon$  = absorvabilidade milimolar da p-nitroanilina em 405 nm = 8,235

Fator =  $(1050 \times 1000) \div (8,235 \times 50 \times 1) = 2550$

#### Técnica de Análise com Padrão - Método cinético de tempo fixo

**Nota:** Esta metodologia requer a utilização de uma Solução de Ácido Acético a 5% (v/v).

#### Calibração do ensaio

Dosar o Padrão em triplicata.

1. Identificar os tubos de ensaio com "Branco e "Padrão" e proceder:

Tubos	Branco	Padrão
Água Deionizada	500 µL	500 µL
Padrão (3)	-----	50 µL
Ácido acético 5%	1000 µL	1000 µL

2. Homogeneizar e medir as absorvâncias do Padrão (triplicata) em 405 nm (400 a 420 nm), acertando o Zero do aparelho com o tubo Branco.

3. Calcular a média das absorvâncias do Padrão.

#### Dosagem do Teste

1. Identificar os tubos de ensaio com "Branco e "Teste" e proceder:

Tubos	Branco	Teste
Reagente de trabalho	500 µL	500 µL

2. Incubar os tubos por 2 minutos no banho-maria a 37 °C.

3. Adicionar ao tubo Teste 25 µL de amostra.

- Homogeneizar e deixar por 10 minutos (**CRONOMETRAR**) no banho-maria a 37 °C.
- Adicionar aos 2 tubos (Branco e Teste) 1000 µL de Solução de Ácido Acético a 5% (v/v).
- Homogeneizar e adicionar ao tubo Branco 25 µL de amostra.
- Homogeneizar e medir as absorvâncias do Teste em 405 nm (400 a 420 nm), acertando o Zero do aparelho com o tubo Branco.

**Cálculos**

Ver Linearidade.

Como a metodologia obedece a lei de Lambert-Beer, pode-se efetuar os cálculos através do Fator de Calibração (FC).

CP = Concentração do Padrão = 125 U/L

AP média = Média das absorvâncias do Padrão

CT = Atividade de Gama GT em U/L

AT = Absorvância do Teste

FC = Fator de Calibração = CP ÷ AP média do Padrão

**Exemplo**

Se AP média do Padrão = 0,162

Se AT = 0,085

CP = 125 U/L

FC = Fator de Calibração = CP ÷ AP média do Padrão = 125 ÷ 0,162 = 772

CT = Atividade de Gama GT do Teste em U/L = 0,085 x FC

CT = 0,085 x 772 = 65,6 = 66 U/L

**Atenção**

As técnicas apresentadas são adequadas para fotômetros cujo volume mínimo de solução para a leitura é igual ou menor do que 1000 µL.

O analista sempre deve fazer uma verificação da necessidade de ajuste do volume para o fotômetro empregado no seu laboratório.

Os volumes de amostra e de reagente podem ser modificados proporcionalmente, sem alterar o desempenho do teste e os cálculos.

Em caso de redução dos volumes é necessário observar o volume mínimo de leitura fotométrica.

Volumes da amostra menores do que 10 µL são críticos em aplicações manuais e devem ser usados com cautela porque aumentam a imprecisão da medição.

**Conversão de Unidades**

Unidade Convencional (U/L) x 16,7 = Unidade SI (nKat/L)

**VALORES DE REFERÊNCIA**

Homens: < 60 U/L	Mulheres: < 40 U/L
------------------	--------------------

Estes valores devem ser usados como uma orientação. É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

**AUTOMAÇÃO**

Este kit pode ser utilizado na maioria dos analisadores automáticos.

O consumidor poderá solicitar mais informações através do Setor de Apoio ao Cliente (SAC) ou acessando o site [www.goldanalisa.com.br](http://www.goldanalisa.com.br)

**CONTROLE DA QUALIDADE**

O laboratório clínico deve manter um Programa de Garantia da Qualidade para assegurar que todos os procedimentos laboratoriais sejam realizados de acordo com as Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Para controle e verificação do desempenho do kit usar Soro Controle N e Soro Controle P da Gold Analisa.

É importante que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores médios e os respectivos limites de variação.

**CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO<sup>10</sup>**

**Linearidade**

A reação é linear até 700 U/L. Para valores maiores, diluir a amostra com solução de NaCl 150 mmol/L (0,85%) e realizar uma nova determinação. Multiplicar o valor obtido pelo fator de diluição empregado.

**Repetitividade**

A imprecisão intra-ensaio foi calculada com 20 determinações utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes.

As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 1,1 e 0,6%.

**Reprodutibilidade**

A imprecisão inter-ensaio foi calculada com 20 determinações utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes.

As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 2,6 e 1,8%.

**OBSERVAÇÕES**

1. A observação minuciosa da limpeza e secagem da vidraria, da estabilidade dos reagentes, da pipetagem, da temperatura e do tempo de reação é de extrema importância para se obter resultados precisos e exatos.

2. Na limpeza da vidraria pode-se empregar um detergente neutro ou uma solução ácida. A última lavagem deve ser feita com água destilada ou deionizada.

3. A água utilizada nos laboratórios clínicos deve ser purificada utilizando-se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, amins e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Fundamento de Química Clínica, 4a Ed - Guanabara Koogan SA; 1998.

2. The Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology: Scand. J Clin Lab Invest 1976;36:119.

3. Inmetro - Boas Práticas de Laboratório Clínico e Listas de Verificação para Avaliação, Qualimark Editora, Rio de Janeiro, 1997.

- IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes-Part 4. IFCC Method for -Glutamyltransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:633-45.
- IFCC Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Concentration of gama-Glutamyltransferase. Clin Chem Lab Med 2002;40:734-738.
- Internacional Federation of Clinical Chemistry, Expert Panel on Enzymes. Clin Chim Acta 1983, 135:315F.
- Sociedad Española de Química Clínica, Comité Científico, Comisión de Enzimas. Quim Clin 1990; 9:58-61.
- Szasz, G.: Clin Chem 1969;15:124.
- Westgard JO, Barry PL, Hunt MR. Clin Chem 1981;27:493-501.
- GOLD ANALISA: Informe Técnico do Produto.

**APRESENTAÇÃO**

REF.	Reagentes	Volume
461M	Tampão	1 x 24 mL
	Substrato	1 x 6 mL
	Padrão	1 x 3 mL
461	Tampão	2 x 24 mL
	Substrato	2 x 6 mL
	Padrão	1 x 3 mL

**TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO**

**Lei nº 8.078 de 11-9-90 - Código de Defesa do Consumidor**

A Gold Analisa garante a substituição, sem ônus para o consumidor, de todos os produtos que comprovadamente apresentarem problemas técnicos, desde que o usuário utilize equipamentos e materiais em boas condições técnicas, siga rigorosamente o procedimento técnico e as recomendações estabelecidas nas Instruções de Uso.

Nº do lote e data de validade: Vide Rótulos do Produto

Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16

AF MS Nº 800222-3 - Reg. MS - Nº 80022230076

Farm. Resp. José Gilmar Pereira Berto - CRF-MG 13421

Av. Nossa Senhora de Fátima, 2363 - Carlos Prates - Fone: (31) 3272-1888

Belo Horizonte MG Brasil CEP: 30710-020

Home page: [www.goldanalisa.com.br](http://www.goldanalisa.com.br)

E-mail: [goldanalisa@goldanalisa.com.br](mailto:goldanalisa@goldanalisa.com.br)

Setor de Apoio ao Cliente (SAC): 0800 703 1888

Analisa é marca registrada da Gold Analisa Diagnóstica Ltda

**SIMBOLOGIA**

	Número do catálogo		Limite de temperatura
	Número do lote		Quantidade de testes
	Produto para diagnóstico <i>in vitro</i>		Consultar as instruções de uso
	Data limite de utilização		Fabricado por

Revisão: 07/18