

γ -GT LIQUICOLOR

MÉTODO:

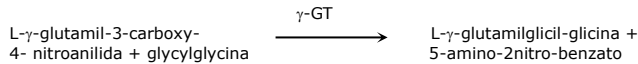
Cinético Colorimétrico

FINALIDADE:

Reagentes para a determinação cinética colorimétrica da Gama-glutamil transferase (γ -GT) em amostras biológicas (soro, plasma). Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO:

A gama-glutamil transferase (γ -GT) cataliza a reação de transferência do grupamento glutamila da L- γ -glutamil-3-carboxy-4-nitroanilida para a glicilglicina originando L- γ -glutamilglicilglicina e 5-amino-2-nitro-benzoato.



SIGNIFICADO CLÍNICO:

Os rins e, até certo ponto, o fígado e o pâncreas são ricos em γ -GT. Alguns outros tecidos contêm pequenas quantidades desta enzima.

O principal valor clínico da medida de γ -GT está no estudo da doença hepatobiliar. Os valores assemelham-se àqueles da fosfatase alcalina estando aumentados na icterícia obstrutiva e na doença infiltrativa do fígado. Está aumentada também em alcoólatras crônicos e pacientes em uso de drogas que induzem o sistema enzimático microsomal (ex. fenitoína).

Alcoólatras que se tornam abstinentes mostram uma redução nos níveis de g-GT anteriormente elevados.

Na colestase mecânica e viral a g-GT encontra-se tão aumentada quanto a fosfatase alcalina, na colestase por drogas a g-GT está muito mais aumentada.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:

Conservar entre 2 a 8°C.

Reagentes:

BUF - Tampão: Tampão TRIS (pH 8,25) 125 mmol/L; Glicilglicina 150 mmol/L; Azida sódica 0,095 %.

RGT - Substrato: L-gamaglutamil-3-carboxi-4-nitroanilida 20 mmol/L; Azida sódica 0,095%.

PREPARO DO REAGENTE DE USO:

Adicionar 2 mL do Substrato (SUB) à 8 mL do Tampão (BUF) e homogeneizar.

ESTABILIDADE:

Os reagentes são estáveis, mesmo após abertos, até a data de validade impressa no rótulo, quando armazenados entre 2 - 8°C. Evitar contaminação dos reagentes. Não congelar.

Reagente de Uso: estável por 6 semanas a 2 - 8°C ou 5 dias a 15 - 25°C.

TRANSPORTE:

O transporte do kit deve ser feito pela rota mais direta evitando-se as chegadas nos finais de semana e feriados no local de destino. O kit não é afetado pelo transporte desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 07 dias e em uma temperatura de até 37°C.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES:

Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente. A solução tampão e o substrato contém azida sódica como conservante. Não ingerir ou aspirar. Evitar contato com a pele e mucosa;

Durante a reação 5-amino-2-nitrobenzeno é produzido.

Este produto é venenoso quando inalado, engolido ou quando absorvido pela pele.

Se a mistura da reação entrar em contato com a pele ou membranas mucosas enxaguar com água em abundância;

Como não se pode assegurar que amostras biológicas e soros controle não transmitam infecções, recomenda-se manuseá-los de acordo com as normas de biossegurança;

Para descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.

A rigorosa observação da temperatura, do tempo de incubação, da limpeza da vidraria, da estabilidade dos reagentes e da pipetagem é de extrema importância para se obter bons resultados.

Os riscos residuais do kit, de acordo com critérios pré-determinados, são aceitáveis em comparação aos benefícios proporcionados pelo uso. A análise de risco foi realizada de acordo com a ISO 14971, relacionada à data final e levando em consideração a atual informação de registro.

AMOSTRA BIOLÓGICA:

SORO, PLASMA (EDTA)

Evitar amostra com hemólise

Em temperatura de até 25°C a estabilidade da amostra se mantém por 7 dias.

Plasmas citratados, fluoretados ou oxalatos produzem inibição da atividade da g-GT.

INTERFERÊNCIA:

Triglicérides até 2500 mg/dL, Hemoglobina até 100 mg/dL, Bilirrubina até 40 mg/dL e ácido ascórbico até 20 mg/dL não mostram nenhum efeito de interferência.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

Fotômetro UV/VIS; Pipetas; Banho-maria ou termostatizador; Cronômetro.

MÉTODO DE ANÁLISE:

A. Termostatar o reagente de uso e as cubetas na temperatura desejada. A temperatura deve permanecer constante ($\pm 0,5^\circ\text{C}$) durante a execução do teste.

B. Leitura em Espectrofotômetro:

Comprimento de onda: Hg 405 nm (400-420 nm).

Cubeta: 1 cm

Temperatura: 25°C, 30°C, 37°C.

Medida: contra o ar (aumento de absorbância)

C. PROCEDIMENTO:

Pipetar nas Cubetas	25°C, 30°C, 37°C
Amostra	100 μL
Reagente de uso	1,0 mL
Homogeneizar. Ler a absorbância inicial após 1 minuto.	
Ao mesmo tempo acionar o cronômetro. Ler a absorbância novamente após exatamente 1, 2 e 3 minutos.	

Para a calibração observar qual método está descrito para o analito na tabela de valores do calibrador, se Scasz ou IFCC e a temperatura caso for Scasz. Para IFCC a temperatura será sempre 37°C.

D. CÁLCULO

• Calcular a média das diferenças das absorbâncias por minuto ($\Delta A/\text{min}$).

$$[(A_1 - A_0) + (A_2 - A_1) + (A_3 - A_2)]/3$$

• Para calcular a atividade (U/L) de γ -GT aplicar ao $\Delta A/\text{min}$ os seguintes fatores:

U/L = $\Delta A/\text{min}$	Método Scasz (405 nm)	Método IFCC (405 nm)
Sample Start	1158	1309

Exemplo:

$A_0 = 1,174$

$A_1 = 1,194$

$A_2 = 1,215$

$A_3 = 1,237$

$$\Delta A/\text{min} = [(1,194 - 1,174) + (1,215 - 1,194) + (1,237 - 1,215)]/3$$

$$\Delta A/\text{min} = 0,021$$

$$\gamma\text{-GT U/L} = \Delta A/\text{min} \times 1158$$

$$\gamma\text{-GT U/L} = 0,021 \times 1158 = 25 \text{ U/L}$$

Fator de conversão de unidades internacionais (U/L) para o sistema internacional - SI (Kat/L):

$$1 \text{ U/L} = 16,67 \times 10^{-9} \text{ Kat/L} = 16,67 \times 10^{-3} \mu\text{Kat/L}$$

$$1 \mu\text{Kat/L} = 60 \text{ U/L}$$

TÉCNICA ALTERNATIVA:

Para laboratórios cuja rotina é pequena, pode-se preparar menor volume de reagente de uso, mantendo sempre a proporção de 2 partes do SUB para 8 partes do BUF ou utilizar o seguinte procedimento:

Pipetar nas Cubetas	25°C, 30°C, 37°C
Amostra	100 μL
BUF	1,0 mL
Homogeneizar, incubar por 1 minuto a 25°C, 30°C ou 37°C.	
SUB	250 μL
Homogeneizar. Ler a absorbância inicial após 1 minuto. Ao mesmo tempo acionar o cronômetro. Ler a absorbância novamente após exatamente 1, 2 e 3 minutos.	

CÁLCULO

• Calcular a média das diferenças das absorbâncias por minuto ($\Delta A/\text{min}$):

$$[(A_1 - A_0) + (A_2 - A_1) + (A_3 - A_2)]/3$$

• Para calcular a atividade (U/L) de γ -GT aplicar ao $\Delta A/\text{min}$ os seguintes fatores:

U/L = $\Delta A/\text{min}$	Método Scasz (405 nm)	Método IFCC (405 nm)
Reagent Start	1421	1606

Exemplo:

Seguir o exemplo utilizado na técnica anterior, modificando apenas o valor do fator ($\Delta A/\text{min} \times 1421$) para calcular a atividade da γ -GT.

VALORES DE REFERÊNCIA:

TEMPERATURA	25°C (Scasz)	30°C (Scasz)	37°C (Scasz)	IFCC 37°C
Homem	6-28 U/L	8-46 U/L	11-61 U/L	<55
Mulher	4-18 U/L	7-29 U/L	9-39 U/L	<38

LINEARIDADE DA REAÇÃO:

A reação é linear até 250 U/L.

Se a média das diferenças das absorbâncias por minuto ($\Delta A/\text{min}$) for superior a 0.200 em Hg 405 nm, diluir 0,1 mL da amostra com 0,5 mL de solução fisiológica (0,9%) e repetir o teste usando esta diluição. Multiplicar o resultado por 6.

AUTOMAÇÃO:

Adaptação especial para analisadores pode ser fornecida quando solicitada.

CONTROLE DE QUALIDADE:

Todo soro controle contendo valores determinados pelo método cinético colorimétrico para γ -GT pode ser empregado. Recomendamos o uso de nossos soros controle HUMATROL e SERODOS. Com valores para temperatura de 25°C, 30°C e 37°C.

RECUPERAÇÃO EM SOROS CONTROLES:

Soros controle comerciais disponíveis foram usados. Os soros controle foram reconstituídos/preparados de acordo com as instruções do fabricante. Doze determinações de cada soro controle foram feitas com reagentes de γ -GT cinético colorimétrico de diferentes lotes. A média dos valores foi calculada e comparada com a média fornecida pelos respectivos soros controle.

A.1. Imprecisão - Repetibilidade:

Amostra	N	Média	DP	CV
Valor baixo	36	48,4	1,29	2,66
Valor médio	36	115	1,67	1,44
Valor alto	36	428	3,16	0,75

A.2. Imprecisão - Reprodutibilidade:

Amostra	N	Média	DP	CV
Valor baixo	36	48,4	1,49	3,09
Valor médio	36	115	2,31	2,0
Valor alto	36	428	7,21	1,69

SENSIBILIDADE:

A partir da média de 20 determinações de um calibrador 0 U/L (salina fisiológica) no analisador Hitachi 717 obteve uma média absoluta de -0,10 U/L e o DP de 1,06. A sensibilidade foi calculada a partir do desvio padrão de 03 replicatas:

Sensibilidade = 3,18 U/L.

COMPARAÇÃO DO KIT:

O kit da γ -GT liquicolor cinética foi comparado com outros métodos para dosagem da γ -GT comercialmente disponível. Soros controle assim como 53 amostras de pacientes foram usados na comparação. Foram avaliados os resultados obtidos pelos métodos utilizados e também através de uma equação de regressão não-paramétrica de acordo com Bablok & Passing. A regressão linear obtida foi descrita como:

$$Y (\gamma\text{-GT liquicolor}) = 1,027 * X(\text{método de referencia}) + 1,274$$

O coeficiente de correlação foi = 1,00

Ambos os métodos mostraram uma boa concordância e um desvio não significativo foi observado em algumas amostras específicas.

APRESENTAÇÃO DO KIT:

Cat. Nº	Reagente	Volume	Nº Teste
12013	BUF RGT	1 x 80 mL 1 x 20 mL	100
12013-IV1/2	BUF RGT	1 x 40 mL 1 x 10 mL	Varia de acordo com o equipamento
12013-IV3/4	BUF RGT	1 x 40 mL 1 x 10 mL	Varia de acordo com o equipamento

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:

Telefone: **31 3067-6400** e-mail: invitroms@invitro.com.br

No DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

BIBLIOGRAFIA:

1. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 14, 421 (1976).
2. Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 12, 228 (1974).
3. Persijn, J.P. Van der Slik, W., J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 14, 421 (1976).
4. Bulletin SGKC, Suppl. Vol. 27/1 (1986).
5. Schumann, G. et al., Clin. Chem. Lab. Med. 40, 734-738 (2002).
6. Schumann, G. et al., Clin. Chem. Acta. 327, 69-79 (2003).
7. Abicht, K. et al., Clin. Chem. Lab. Med. 39, S1-S448 (2001).
8. Lee, D. H. et. Al., Clin Chem. 49, 1358-1366(2003).

Fabricante: In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053.

Regularizado por: In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053. CNPJ: 42.837.716/0001-98.

Telefone: 31 3067-6400 e-mail: invitroms@invitro.com.br

Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF 4463

ANVISA: 10303460155 Classe de Risco: II

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO

O conteúdo é suficiente para <n> testes



Data limite de utilização



Limite de temperatura (conservar a)



Número do Catálogo



Consultar Instrução de Uso



Número do lote



Produto Diagnóstico In Vitro



Data de Fabricação