Gama GT liquicolor - SNIBE

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* profissional.

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

L-γ-glutamil-3-carboxy-4- nitroanilida + glycylglycina $\xrightarrow{\gamma\text{-GT}}$ L-γ-glutamilglicil-glicina + 5-amino-2nitro-benzato

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 microssomal (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 8ºC.

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. Estável por 6 semanas a 2 - 8ºC ou 5 dias a 15 - 25ºC.

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

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 7 dias e em uma temperatura de até 37ºC.

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 transmitem 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.

AMOSTRAS BIOLÓGICAS
Tipo de amostra: Soro, Plasma (EDTA). Evitar amostra com hemólise. Plasmas citratados, fluoretados ou oxalatados produzem inibição da atividade da g-GT.

Estabilidade das amostras: Em temperatura de até 25ºC a estabilidade da amostra se mantém por 7 dias.

• O transporte da amostra biológica, quando necessário, deve ser feito pela rota mais direta e evitando sua chegada nos finais de semana e feriados no local de destino. A amostra biológica deve ser acondicionada em recipiente hermeticamente fechado, em seguida embalada de forma a mantê-la em temperatura recomendada (2 a 8ºC) desde o remetente até a entrega ao destinatário. Esta amostra deve ser identificada com o símbolo de amostra biológica.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS
Equipamento de bioquímica automático, pipeta, ponteira e lixo para descarte. Os materiais não fornecidos podem ser adquiridos no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

MÉTODO DE ANÁLISE
A. Termostatizar o reagente de uso e as cubetas na temperatura desejada. A temperatura deve permanecer constante (± 0,5ºC) durante a execução do teste.

B. Leitura em Espectrofotômetro:
Comprimento de onda: Hg 405 nm (400-420 nm).
Cubeta: 1 cm
Temperatura: 25ºC, 30ºC, 37ºC.
Medida: contra o ar (aumento de absorbância)

C. Procedimento de teste:

Pipetar nas Cubetas	25ºC, 30ºC, 37ºC
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 37ºC.

CÁLCULOS
• Calcular a média das diferenças das absorbâncias por minuto (ΔA/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 ΔA/min os seguintes fatores:

U/L = ΔA/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

ΔA/min = [(1,194 - 1,174) + (1,215 - 1,194) + (1,237 - 1,215)]/ 3
ΔA/min = 0,021

γ-GT U/L= ΔA/min x 1158
γ-GT U/L= 0,021 x 1158 = 25 U/L

Fator de conversão de unidades internacionais (U/L) para o sistema internacional - SI (Kat/L):
1 U/L = 16,67 x 10^{-9} Kat/L = 16,67 x 10^{-3} µKat/L
1 µKat/L = 60 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:

Procedimento de teste:

Pipetar nas Cubetas	25ºC, 30ºC, 37ºC
Amostra	100 µL
BUF	1,0 mL
Homogeneizar, incubar por 1 minuto a 25ºC, 30ºC ou 37ºC.	
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.	

CÁLCULOS
• Calcular a média das diferenças das absorbâncias por minuto (Δ A/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 ΔA/min os seguintes fatores:

U/L = ΔA/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 (ΔA/min x 1421) para calcular a atividade da γ-GT.

CALIBRAÇÃO
Para a calibração recomenda-se o uso do Multicalibrador de Bioquímica – Snibe de acordo com os procedimentos descritos em sua instrução de uso e tabela com valores. Inserir no analisador o valor definido para este parâmetro. Recomendamos a verificação da validade da calibração antes de cada corrida. A recalibração deve ser realizada quinzenalmente ou:
- Sempre que os controles se encontrarem fora da faixa;
- Depois da troca de lote de reagente;
- De acordo com o requerido no controle de qualidade interno.

VALORES DE REFERÊNCIA

Temperatura	25ºC (Scasz)	30ºC (Scasz)	37ºC (Scasz)	IFCC 37ºC
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

CONTROLE DE QUALIDADE
Todo soro controle contendo valores determinados pelo método cinético colorimétrico para γ-GT pode ser empregado. Recomendamos a utilização de nossos soros controle da linha Multicontrole de Bioquímica - Snibe com valores para temperatura de 25ºC, 30ºC e 37ºC.

AUTOMAÇÃO
Adaptação especial para analisadores automáticos de bioquímica está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada para o Departamento de Serviços Associados.

REV. 07/26

RASTREABILIDADE
O kit Gama-GT liquicolor é rastreável à preparação referência ERM-AD 452.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Exatidão
O kit Gama GT liquicolor 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 (Gama GT liquicolor) = 1,027* X(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.

Precisão
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

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 sensibilidade encontrada foi de 3,18 U/L.

Linearidade
A reação é linear até 250 U/L. Se a média das diferenças das absorbâncias por minuto (ΔA/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 está diluição. Multiplicar o resultado por 6.

Interferentes
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.

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.

APRESENTAÇÃO DO KIT

Cat. Nº	Reagente	Volume
814-2	BUF RGT	2 x 60 mL 2 x 15 mL

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).

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:
Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:
Telefone: +55(31) 3067-6400 E-mail: invitroms@invitro.com.br

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

Fabricado e Regularizado por: In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053. CNPJ: 42.837.716/0001-98.
Telefone: +55(31) 3067-6400 E-mail: invitroms@invitro.com.br
Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF-MG 4463
ANVISA: 10303460584 Classe de risco: II

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO


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