



INSTRUÇÕES DE USO (Versão Mai/16)

GAMA GT

Método Cinético

FINALIDADE

Kit destinado à determinação da γ -glutamyltransferase no soro ou plasma animal. Exclusivo para uso em diagnóstico "in vitro".

PRINCÍPIO DE AÇÃO

A gama-glutamyl transferase (γ GT) catalisa a reação de transferência do grupamento glutamyl do γ -glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida para a glicilglicina, originando L- γ -glutamylglicilglicina e 5-amido-2 nitrobenzoato. A concentração catalítica é determinada a partir da velocidade de formação do 5-amido-2 nitrobenzoato e medida em espectrofotômetro a 405nm.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A γ GT tem aplicação principal no estudo das doenças hepatobiliares e está distribuída em quase todo o tecido animal. O rim contém a mais elevada concentração, seguido pelo pâncreas e fígado. A γ GT é mais sensível à obstrução biliar do que as transaminases, sendo o exame mais indicado para esta avaliação. Níveis muito elevados de γ GT ocorrem nos casos de colestase crônica, como na cirrose biliar primária, atresia biliar ou na colangite esclerosante e em outras patologias hepáticas e biliares. Nas doenças hepáticas obstrutivas os níveis de γ GT são 5 a 50 vezes maiores que o normal. Já nas hepatites infecciosas o aumento é mais discreto. A γ GT também se eleva nas doenças hepáticas inflamatórias e tóxicas, nos hepatomas, carcinoma de pâncreas e metástases hepáticas. A γ GT, a fosfatase alcalina e o antígeno carcinoembrionário são bons marcadores de metástases hepáticas de neoplasias de mama e cólon. No entanto, em 19% dos indivíduos com progressão da doença os níveis de γ GT são normais (falso-negativos) e em 4% dos pacientes sem evidências da doença, os níveis de γ GT estão elevados (falso-positivos). Também são marcadores de carcinoma de pâncreas, carcinoma de próstata e hepatoma. Indivíduos com seminoma também podem apresentar níveis elevados de γ GT. Valores elevados de γ GT são observados em pacientes com diabetes mellitus, pancreatite, hipertireoidismo, artrite reumatóide, lupus eritematoso sistêmico, mononucleose, doenças de depósito de glicogênio, transplante renal, distrofia miotônica, e doença pulmonar obstrutiva crônica. Os níveis de γ GT encontram-se diminuídos no hipotireoidismo. A diminuição dos níveis de γ GT em pacientes com carcinoma denota resposta ao tratamento e em casos de alcoolismo crônico essa diminuição demonstra a retirada do álcool e se elevam com a exposição ao mesmo. Sendo assim, a dosagem da γ GT dos pacientes de Clínicas de Tratamento de Alcoolismo, podem ser de grande valia para monitorar caso voltem a ingerir álcool após a sua alta.

REAGENTES

Apresentação com 60 mL:

- Tampão:** 01 frasco com 48 mL de solução tamponada em pH 8,20, contendo glicil-glicina 150 mmol/L e azida sódica 15,5 mmol/L. Conservar entre 2 e 8°C.
- Substrato:** 01 frasco com 12 mL de solução aquosa 5x concentrada, contendo L- γ -Glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida 10,0 mmol/L e azida sódica \geq 15,5 mmol/L. Conservar entre 2 e 8°C.

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

Espectrofotômetro
Centrífuga
Banho-maria
Cronômetro
Vidraria
Pipetas manuais ou automáticas
Água destilada ou deionizada

CUIDADOS NO ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DOS REAGENTES

- Antes de serem abertos, os reagentes podem ser transportados em temperaturas na faixa de 15-25°C, até um limite de 48 horas.
- As datas de fabricação e validade aparecem no rótulo da embalagem. Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.
- Todos os reagentes devem ser mantidos sob refrigeração, na faixa de 2-8°C. Não congelar. Manter ao abrigo da luz. Os reagentes devem permanecer fora do refrigerador apenas o tempo necessário para as dosagens.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- Somente para uso diagnóstico "in vitro".
- Evitar contaminação com ions metálicos ou agentes oxidantes.
- O espectrofotômetro ou mesmo equipamentos automatizados devem ficar livres de contaminação microbiana, ser calibrados corretamente e receber manutenção de acordo com as instruções do fabricante.
- Não misturar ou trocar diferentes lotes de reagentes.
- Evitar contaminação microbiana dos reagentes e não utilizar reagentes que tenham sinais de contaminação ou precipitação.
- Usar pipetas de vidro e ponteiros descartáveis separadas para cada amostra, controle (se utilizado) e reagente e não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada, o que poderia causar resultados errôneos.
- Não dispensar os reagentes em tubulação contendo ferro galvanizado.
- Os reagentes **1 e 2** contêm azida sódica, irritante para pele e mucosas.
- Caso haja contato com esses reagentes, lavar imediatamente a área afetada com água em profusão. Em caso de ingestão acidental, procurar auxílio médico imediato.
- Não comer, beber, fumar, armazenar ou preparar alimentos, ou aplicar cosméticos dentro da área de trabalho onde reagentes e amostras estiverem sendo manuseados. Usar luvas descartáveis quando manusear amostras clínicas ou reagentes.
- Lavar sempre as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.

12.As amostras devem ser descartadas, após o uso, em recipientes específicos. Não dispensar em coletores de lixo comuns ou nas redes de água e esgotos.

13.Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante.

AMOSTRA

Soro ou Plasma (EDTA).

Sob refrigeração (2-8°C), a γ -Glutamyltransferase no soro ou plasma é estável por 05 dias.

PROCEDIMENTO

Preparo do Reagente de Trabalho: Adicionar 4 (quatro) partes do conteúdo do frasco de Tampão (1) com 1 (uma) parte do conteúdo do frasco de Substrato (2) e homogeneizar bem. Este reagente é estável por 21 dias, se mantido fora da geladeira apenas o tempo necessário para as dosagens e ao abrigo da luz.

Nota: Em condições de armazenamento por períodos prolongados na temperatura ambiente (15-25°C) e na presença de luz, o reagente pode mostrar sinais de deterioração após 07 dias.

Condições para os testes	
Temperatura de trabalho	37°C \pm 0,5 °C.
Comprimento de onda	405 nm.

1-Pré-aquecer o Reagente de Trabalho durante 3 minutos a 37°C.

2-Pipetar em um tubo de ensaio:

Volume	
Reagente de Trabalho	1000 μ L
Amostras	50 μ L

3-Homogeneizar e transferir para uma cubeta termostatizada a 37°C. Acionar o cronômetro.

4-Depois 1 minuto, anotar a absorbância inicial A₀ e efetuar novas leituras após 1, 2, 3 minutos (A₁, A₂ e A₃ respectivamente).

CÁLCULOS

Utilizando as leituras das absorbâncias, calcular a média da variação da absorbância por minuto (ΔA /min):

$$(\Delta A/\text{min}) = \frac{(A_1 - A_0) + (A_2 - A_1) + (A_3 - A_2)}{3}$$

A atividade da γ -glutamyltransferase na amostra é calculada pela multiplicação do ΔA /min, utilizando-se o seguinte fator:

$$\text{Gama GT (U/L)} = \Delta A/\text{min} \times 2945$$

Nota: Para cálculo de Fator nas adaptações em analisadores automáticos, utilizar o coeficiente de absorvidade do γ -GPNA-carboxi = 7,13.

Exemplo:

Abs. inicial = 0,550; A₁ = 0,570; A₂ = 0,592; A₃ = 0,613

$\Delta A_1 = 0,020$; $\Delta A_2 = 0,022$; $\Delta A_3 = 0,021$. **ΔA médio = 0,021**

γ -glutamyltransferase (U/L) = 0,021 x 2945 = 61,8

VALORES DE REFERÊNCIA

Temperatura	37°C
Machos	11 a 50 U/L
Fêmeas	7 a 32 U/L

LINEARIDADE

A reação é linear até 700 U/L ou ΔA /min máximo de 0,237. Para valores acima de 700 U/L, diluir a amostra com solução de NaCl 0,9% (150mM) e repetir a dosagem. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

DADOS ESTATÍSTICOS DE DESEMPENHO DO TESTE

Sensibilidade: 99%.

Exatidão: A comparação com método similar validado resultou na equação de regressão $y=1,045x + 0,849$, e demonstrou coeficiente de correlação, r , igual a 0,99, que demonstra uma exatidão de 99%.

Precisão:

Repetibilidade: A realização de 20 determinações de uma mesma amostra com valor dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados:

Repetibilidade	Amostra
Média	108
Desvio Padrão	2,5
Coefficiente de Variação (%)	2,4

Reprodutibilidade: A realização de 20 determinações de uma mesma amostra, realizada por um operador diferente, utilizando o mesmo equipamento de medição, com valores dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados:

Reprodutibilidade	Amostra
Média	104
Desvio Padrão	2,6
Coefficiente de Variação (%)	2,5

Sensibilidade analítica: a sensibilidade analítica do kit é 3 U/L.

AUTOMAÇÃO

Aplicações para analisadores automáticos estão disponíveis, se solicitadas.

INTERFERENTES

Resultados falsamente diminuídos: Heparina, citrato, fluoreto ou oxalato.

Resultados falsamente aumentados: Hemólise mesmo moderada, soros icterícos e/ou hiperlipêmicos.

Nota: A γ GT está elevada em pacientes que fazem uso prolongado de drogas que induzem o sistema microssomal hepático como o fenobarbital e fenitoína, entre outras. O alcoolismo crônico produz aumento da atividade da γ GT no soro.

CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório deve ter como prática de rotina o uso de soros controle comerciais. Preferivelmente deve participar de programas de controle externo de qualidade, a exemplo daqueles oferecidos pela SBAC e SBPC.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Biochem. Biophys. Acta 73 : 679, 1965.
- IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. IFCC method for γ -glutamyltransferase. J.Clin. Chem. Clin. Biochem. 21:633-1983.
- SCIENTIFIC DIVISION, WORKING GROUP ON ENZYMES. International Federation of Clinical Chemistry IFCC methods for measurement of catalytic concentration of enzymes Clin. Chim. Acta. v. 281, v. 1 – 2, p. S5 – S39, 1999.
- Szasz, G. Clin. Chem. 15(2) : 124., 1969
- SZASZ G. Reaction rate method for γ -glutamyltransferase in serum. Clin. Chem. V.22, n.12. p.2055, 1976.
- Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests. 3ª edição. W.B. Saunders Company. 1995.
- Henry JB. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 19ª edição. W.B. Saunders Company. 1995.
- Katal: Dados de arquivo.

APRESENTAÇÃO

60 mL	Volume
1. Tampão	1 x 48 mL
2. Substrato	1 x 12 mL

CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

O desempenho deste sistema diagnóstico, medido pelas propriedades descritas nesta Instrução de Uso, está garantido até a sua data de vencimento, desde que obedecidas as seguintes condições:

- A adesão estrita, pelo usuário, ao quadro de procedimento técnico.
- As condições de armazenamento estarem de acordo com o recomendado nesta Instrução de Uso.
- Os materiais necessários e não fornecidos com o produto, estarem em boas condições de uso.

ASSESSORIA TÉCNICA

Para esclarecimentos de dúvidas e Assessoria Técnica ligue:

(31) 3309-9262

e-mail: biofocovet@focovet.com.br



CNPJ: 71.437.917/0001-04

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA PRODUTOS DIAGNÓSTICOS "IN VITRO"	
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa)
	Material Calibrador
	Limite de temperatura (conservar a)
	Consultar instruções de uso
	Código do Produto
	Produto para Diagnóstico In Vitro
	Liofilizado
	Corrosivo
	Risco Biológico
	Tóxico
	Reagente
	Fabricado por
	Número de Lote