

Instruções de Uso



Gama GT Cepa - Cinética

Método

IFCC - Cinético

Finalidade

Kit para determinação da gamma glutamil transferase em amostras de soro.

Princípio do método

A gamma glutamil transferase catalisa a transferência do radical g-glutamil- do substrato g-glutamil-3-carboxi-4-nitroanilina para o receptor glicilglicina, liberando 3-carboxi-4-nitroanilina. A concentração catalítica é determinada a partir da velocidade de formação de 3-carboxi-4-nitroanilina, medida espectrofotometricamente em 410 ou 405 nm.

Reagentes fornecidos

1. Tampão: Glicilglicina 206,25 mmol/L, hidróxido de sódio 130mmol/L; pH 7,9. (1x48 mL).
2. Substrato: g-Glutamil-3-carboxi-4-nitroanilina 32,5 mmol/L. (1x12 mL)

Condições de uso e armazenagem

A data de validade aparece 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 a 8°C. Manter ao abrigo da luz. Os reagentes devem permanecer fora do refrigerador somente o tempo necessário para as dosagens.

Insumos e equipamentos necessários não fornecidos

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

Precauções e cuidados especiais

- Somente para uso diagnóstico "in vitro".
- Não misturar ou trocar lotes de reagentes diferentes.
- Evitar contaminação microbiana dos reagentes e não utilizar reagentes que tenham sinais de contaminação ou precipitação.
- Caso haja contato com quaisquer reagentes lavar a área afetada com água em profusão. Em caso de ingestão de reagentes procurar auxílio médico imediato munidos desta instrução de uso.
- Utilizar equipamentos de proteção individual segundo normas de biossegurança.
- A água (destilada ou deionizada) utilizada na limpeza do material ou nos procedimentos deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- Certificar-se das condições adequadas de funcionamento dos equipamentos de análise.
- O descarte do material utilizado deve ser feito segundo os critérios de biossegurança.
- Lavar as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.

Amostra biológica

- Soro.

A gamma glutamil transferase em soro é estável durante 5 dias quando mantida na faixa entre 2 a 8 °C.

Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante. Usar luvas descartáveis durante a manipulação do material biológico. As amostras devem ser descartadas, após o uso, em recipientes específicos para este fim. Não dispensar em coletores de lixo comuns ou nas redes de água e esgoto.

Procedimento

Ler, cuidadosamente, as instruções desta bula.

Preparo dos reagentes:

Verter o conteúdo do frasco de Reagente nº 2 (Substrato) no frasco de Reagente nº 1 (Tampão); homogeneizar suavemente. É recomendável a transferência de parte do homogeneizado para o frasco de reagente nº 2, com o objetivo de se obter a completa diluição do reagente contido no mesmo. Rotular como Reagente de Trabalho. Este reagente é estável por 60 dias quando armazenado entre 2-8°C.

Obs.: podem ser preparados volumes menores de reagente de trabalho, desde que respeitada a proporção de 1 mL de Substrato + 4 mL de Tampão.

Dosagem:

1. Permitir que reagentes e amostras atinjam a temperatura ambiente;
2. Pré-aquecer o espectrofotômetro e o reagente de trabalho a 37 °C;
3. Acertar o zero do espectrofotômetro utilizando água destilada ou deionizada.
4. Pipetar em uma cubeta termostatizada a 37 °C como a seguir:

Método	Micro	Macro
Amostra	50µL	100µL
Reagente de trabalho	0,5mL	1,0mL

5. Homogeneizar rapidamente e inserir em um porta cubetas termostatizado a 37°C.
6. Ler e registrar a absorbância inicial (A0), em 405 ou 410 nm e acionar o cronômetro;
7. Realizar novas leituras (A1, A2 e A3), em intervalos de 1 minuto durante 3 minutos;
8. Comprovar que as diferenças entre as absorbâncias sejam sensivelmente iguais. Calcular a média das diferenças das absorbâncias (ΔA/min), que será usada nos procedimentos de cálculo.

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

Cálculos

Considerando que o coeficiente de absorção molar da 3-carboxi-4-nitroanilina é 7.908 em 410 nm e 9.900 em 405 nm, se deduzem as seguintes fórmulas para calcular a concentração catalítica:

- (37 °C) 410 nm: ΔA/min × 1391 = U/L
- (37 °C) 405 nm: ΔA/min × 1111 = U/L

Unidades SI: Gama GT U/L x 16,67 = nKat/L

Linearidade

A reação é linear até 300 U/L (5000 nKat/L). Para valores acima de 300 U/L, diluir a amostra com solução de NaCl 0,85% e repetir a dosagem. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição empregado.

Valores de referência

Homens: 15 - 60 U/L - 250 - 1000 nKat/L - Mulheres: 10 - 40 U/L (167 - 667 nKat/L) - *Estes valores são dados apenas a título orientativo. É recomendável que cada laboratório estabeleça sua própria faixa de valores de referência.

Controle de 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.

Dados estatísticos de desempenho do teste

Recuperação: 98,9%.

Coeficiente de variação intra-ensaio (repetitividade): A realização de 20 determinações de uma mesma amostra com valor dentro da faixa de referência, mostrou um coeficiente de variação igual a 2,75%. O mesmo procedimento para valores elevados mostrou um coeficiente de variação igual a 2,50%.

Coeficiente de variação inter-ensaio (reprodutibilidade): A realização de 20 determinações de uma mesma amostra com valor dentro da faixa de referência, mostrou um coeficiente de variação igual a 4,65%. O mesmo procedimento para valores elevados mostrou um coeficiente de variação igual a 3,50%.

Especificidade analítica: A comparação com método similar validado (que também utiliza a metodologia cinética com g-glutamil-3-carboxi-p-nitroanilida) demonstrou um coeficiente de correlação, igual a 0,992 a partir da análise de amostras aleatórias oriundas de pacientes de ambulatório. A equação de regressão obtida foi:

$$y=1,055x (-0,67)$$

Sensibilidade analítica: O método apresenta uma variação de absorbância em 405 nm igual a 0,0009 em cada acréscimo de 1U/L na concentração de Gamma GT. O limite de detecção do método é igual a 3 U/L.

Interferentes

Não são conhecidas interferências analíticas. O etanol e vários fármacos induzem à síntese hepática de gama glutamil transferase.

Referências bibliográficas

IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. J. Clin Chem Clin Biochem 1983; 21:633-646.

Apresentação

Número de testes Macro: 60

Número de testes Micro: 120

Automação

Os reativos podem ser utilizados em analisadores automáticos. Vide programação no verso ou solicite informações ao seu distribuidor.

Dados do fabricante

MBiolog Diagnósticos Ltda

Rua Gama, 337 – Vila Paris – Contagem – MG – CEP 32372-120

Resp. Técnico: Fabricio Galvão de Brito – CRF-MG 9587

SAC - Serviço de Atendimento ao Cliente

tel (31) 3507-0707

e-mail sac@mbiolog.com.br

REV.: 0408

CALIBRATION MODE	FACTOR - 1
REAGENT BLANK	REAG/DIL - 2
CLEANER	NO - 1
WAVELENGTH	405 nm - 1
DECIMAL POSITION	0 (U/L)
UNIT	21 (U/L)
ANALYSIS	
POST. DIL FACTOR	5
CONC. FACTOR	NO - SPACE
SAMPLE CYCLE	1
VOLUME	20 µL
DILUTION NAME	H2O - 0
VOLUME	20 µL
REAGENT CYCLE	1
VOLUME	200 µL
CALCULATION	
SAMPLE LIMIT	NO - SPACE
REACTION DIRECTION	INCREASE - 1
CHECK	ON - 1
CONVERSION FACTOR	1
OFFSET / TEST RANGE LOW	0 / 0
	HIGH 300 U/L
NORMAL RANGE LOW	12
	HIGH 86
NUMBER OF STEPS	1
CALCULATION STEP A	KINSERARCH
READING FIRST	2
LAST	10
REACTION LIMIT	NO - SPACE
CALIBRATION	
CALIBRATION INTERVAL	ON REQUEST - 3
TIME	NO - SPACE
REAGENTE RANGE LOW	NO - SPACE
	HIGH NO - SPACE
BLANK RANGE LOW	-NO - SPACE
	HIGH NO - SPACE
FACTOR	2104

Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.

EXPRESS 550/PLUS®

TEST NAME: GGT TEST: GGT
TEST BAR CODE: IPU*

TEST TYPE: KINETIC	CURVE TYPE:: ENZ. LINEAR
UNITS: U/L	Nº OF DECIMAL PLACE: 0
PRIMARY WAVELENGHT: 405	SECONDARY WAVELENGHT: 600
READ TIME / INTERVAL: 30	SAMPLE BLANK: NO
FACTOR: 1391	
CALIBRATION INTERVAL: 180 h	Nº OF REPLICATES: 2
Nº OF CALIBRATOR: IPU*	
LOW BLANK A LIMIT: 0	HIGH BLANK A LIMIT: 1000
LOW A LIMIT: 0	HIGH A LIMIT: 2000
LOW NORMAL: 0	HIGH NORMAL: 86
LINEARITY LIMIT: 300	CURVE S.D. LIMIT: 8
SAMPLE VOLUME: 25 µL	TEST: GGT
SAMPLE DILUENTE BOTTLE TYPE: *	PREDILUTION RATIO: 1
REAGENT DILUENTE BOTTLE TYPE:*	
REAGENT DILUENT: VOL. RAG. BD DIL LAG TIME BT	
REAGENT 1: 250	40 *
IPU: Inserido Pelo Usuário	
*: Entre com o tipo de frasco utilizado. Plástico ou Vidro	
<i>Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.</i>	
BIO2000® & LABQUEST®	
MODO	CIN INT. CIN 60
WLI	405 Nº DE INTERV 3
WL2	ÄA LIMIT 0,2
TEMP?	37°C % LIM LIN 20
VOL ASP	400 DIR INCR
RETARDO	30 ABS REAT MIN 0,09
FATOR	1211 ABS REAT MAX 1,8
UNDIDAD	U/L VR/VN MIN 10
DECIMALS	0 VR/VN MAX 60
IMPRESSÃO	EXT
<i>Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.</i>	
RA-50®	
TEMPERATURA	37 °C

VOLUME DA AMOSTRA	100 µL
VOLUME DO REAGENTE	1000 µL
FATOR	1111
TIPO DE REACÃO	CINÉTICA
VALOR DE REFERÊNCIA	10 - 60 U/L
UNIDADES	U/L
COMPRIMENTO DE ONDA	405 nm
INTERVALO DE TEMPO	60
ESTABILIZAÇÃO	10
NÚMERO DE LEITURAS	3
RET. VALOR DO BRANCO	SIM
INCLINAÇÃO DA REAÇÃO	CRESCENTE
LINEARIDADE	330
PRECISÃO DO RESULTADO	0,1 mg/dL
VOLUME DE ASPIRAÇÃO	400 µL

Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.

RA-100®

TEST Nº / TEST NAME	GGT
UNITS	U/L
LOW NORMAL	10
HIGH NORMAL	60
FACTOR	1310
STAND. CON	IPU*
TYPE	1
WAVELENGTH	405
SAMPLE VOLUME	25
SAMPLE PRIME VOL.	2,5
SAMPLE FLUSH VOL.	250
REAGENT. VOL	300
REAG. PRIME VOL.	12,5
REAG. FLUSH VOL.	450
INCUBATION TIME	70
READ TIME	140
REAG. ABS LOW	0,1
REAG. ABS HIGH	0,9
REACT. ABS LOW	0,8
REACT. ABS HIGH	1,8
MAX LIN RSLT	0,3
TEMPERATURA	37 °C

IPU* Inserido Pelo Usuário

Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.

BTS-310®

LOCALIDAD	IPU*
NOMBRE TECNICA	GGT
UNIDADES	4
MODO DE CÁLCULO	CDF
MODO DE LECTURA	-
FILTRO REFERENCIA	-
FILTRO LECTURA	405
FATOR	2120
TIEMPO ESTBILIDAD	1
TIEMPO INCUBACION	20
TIEMPO INTERVALO	30
NÚMERO DE INTERVALOS	3
VOLUME DE ASPIRAÇÃO	400
TIPO DE REACION	CRESCENTE
ESTANDAR / Nº ESTANDARTES	-
DUP. ESTANDARTES	-
DUP. MUESTRAS	-
ESCALAS ABS / CON.	-
FACTOR DILUCION	-
TEMPERATURA	37

Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.

ABBOT VP®

NAME INDEX – TES NAME	GGT
TEMPERATURE	37°C
FILTER ID CODE	405
UNITS	07 (U/L)
DILUTION 1:	26 (1:26)
REV. TIME	2
AUX. DISP	NO
FRR	NO
REACTION UP	YES
STANDARDS	NO
REAG. BLANK	YES
ASSAY FACTOR	6114
END. POINT	NO
BGN PRT REVOLUTION	3
PRT REVOLUTION	0,1
INITIAL ABS	2
UP LIMIT	YES
SUBSTRAT DEPLECTION	0,6
REAGENT DEGRADATION	40

Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.

Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.