

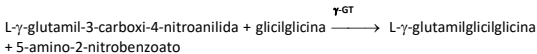
 BioTécnica BIOTECNOLOGIA AVANÇADA	
Gama GT Gamma-Glutamyl Transferase (GGT) Gama GT Ref. 11.006.00	
Responsável Técnico: Dr. Gilson Sérgio Pizzo CRF MG – 5310 MS 80027310195	

FINALIDADE
 Kit destinado à determinação quantitativa da atividade enzimática da γ -glutamil transferase (Gama GT) no soro e plasma. Uso em diagnóstico *in vitro*.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E MANUSEIO

- Conservar de 2 a 8 °C.
- Manter ao abrigo da luz.
- Estável até a data de validade do kit que está impressa no rótulo da embalagem.
- Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.

PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO
 A Gama GT catalisa a transferência do grupo glutamil da L- γ -glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida para a glicilglicina, originando L- γ -glutamilglicilglicina e 5-amino-2-nitrobenzoato. A concentração catalítica da enzima presente na amostra é determinada a partir da velocidade de formação do 5-amino-2-nitrobenzoato, medido em 405nm.



AMOSTRAS: TIPO, COLETA, MANUSEIO, PREPARO E PRESERVAÇÃO

Tipo de Amostra: Soro e Plasma (EDTA).
Coleta, manuseio e preparo: Realizar a coleta da amostra conforme Boas Práticas de Laboratório Clínico. As amostras a serem analisadas devem ser tratadas como material potencialmente infectante.
Preservação: A Gama GT no soro e no plasma é estável por 30 dias se conservada em temperatura de 4 a 8 °C e 1 ano em temperatura de -20 °C.

DESCRIÇÃO DO PRODUTO

R 1	Tampão TRIS \geq 50 mmol/L; Glicilglicina \geq 50 mmol/L; conservante.	
R 2	L- γ -Glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilina \geq 10 mmol/L; MÉS \geq 1 mmol/L; conservante.	

Rastreável à absorvidade específica do cromógeno 5-amino-2-nitrobenzoato utilizando pipetas calibradas e espectrofotômetro manual que fornecem valores absolutos, com base em metodologia modificada da IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine).

- ESTABILIDADE EM USO**
- A estabilidade do produto (R1 e R2) em uso é de 15 meses, desde que seguidas a condições de armazenamento recomendadas (2 a 8 °C).
 - A estabilidade do reagente de trabalho é de 3 semanas, desde que seguidas a condições de preparo e armazenamento recomendadas (2 a 8 °C).
 - Os reagentes devem permanecer fora da temperatura especificada somente o tempo necessário para a realização dos testes.

TRATAMENTO E MANUSEIO DO PRODUTO

A) PREPARAÇÃO DOS REAGENTES
Reagente de Trabalho (RT)
 Misturar na proporção: 4 partes de R1 + 1 parte de R2. Homogeneize suavemente.

B) INTERVALO OPERACIONAL
 O intervalo operacional do produto é de 4,00 U/L a 270 U/L.
 Para valores superiores, diluir a amostra com NaCl 150 mM (0,9%), realizar nova dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

CONTROLE DE QUALIDADE
 O uso de controles deve ser prática rotineira no laboratório. Sugere-se usar um controle na faixa de referência ou no nível de decisão e outro controle com valor em outra faixa de significância clínica. Para Calibração e Controle Interno de Qualidade Laboratorial recomenda-se o uso do soro calibrador e dos soros controles abaixo:

Soro Calibrador - Autocal H	13.002.00
Soro Controle Normal - Quantinorm	13.003.00
Soro Controle Patológico - Quantialt	13.004.00

PROCEDIMENTO DE ENSAIO, CÁLCULOS E INTERPRETAÇÃO

A) PROCEDIMENTO DE ENSAIO
 1. Preakuecer o Reagente de Trabalho durante 3 minutos a 37 °C.

2. Zerar o equipamento em 405nm com água purificada.
 3. Pipetar em tubo de ensaio:

	Volume
Reagente de Trabalho	1,0 mL
Amostra	100 μ L

4. Homogeneizar e inserir na cubeta termostatizada. Acionar o cronômetro.
 5. Após 60 segundos, medir a absorbância inicial A₀ e efetuar novas leituras após 1, 2 e 3 minutos (A₁, A₂ e A₃) respectivamente.
- B) CÁLCULOS**
 Usando as leituras das absorbâncias, calcular a média de variação da absorbância por minuto ($\Delta A/\text{min}$).

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

A atividade catalítica da Gama GT na amostra é calculada pela multiplicação do $\Delta A/\text{min}$ pelo fator correspondente.

$$\text{Gama GT (U/L)} = \Delta A/\text{min} \times 1158$$

Exemplo:
 A₀ = 1,160 A₁ = 1,189
 A₂ = 1,220 A₃ = 1,250

$$\Delta A/\text{min} = \frac{(1,189 - 1,160) + (1,220 - 1,189) + (1,250 - 1,220)}{3}$$

$\Delta A/\text{min} = 0,030$
 Gama GT (U/L) = 0,030 x 1158 = 34,7 U/L

C) INTERPRETAÇÃO
 A Gama GT está presente no túbulo renal proximal, no fígado, no pâncreas e no intestino. A enzima presente no soro se origina primariamente do sistema hepatobiliar, no entanto, atividades aumentadas de Gama GT ocorrem concomitantemente com a elevação de outros parâmetros bioquímicos. Sendo assim sua análise junto com a fosfatase alcalina, transaminases e bilirrubinas, é útil no diagnóstico diferencial de doenças hepáticas primárias e secundárias. Encontra-se elevada em estilistas crônicos e indivíduos que fazem uso contínuo de anticonvulsivantes, tais como a fenitoína e o fenobarbital.

INTERFERENTES OU LIMITAÇÕES

Hemólise, Ictericia e Lipemia: Hemoglobina > 200 mg/dL / Bilirrubina > 40 mg/dL / Triglicérides > 900 mg/dL.
Medicamentos: consultar referência bibliográfica recomendada (Young, 2000).

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Sensibilidade: Limite de detecção: 3,46 U/L / Limite de quantificação: 4,00 U/L.
Especificidade Analítica: O produto determina especificamente Gama GT na presença de outras substâncias interferentes na amostra, até as concentrações informadas acima.
Exatidão: O método foi comparado com método similar pela determinação de 40 amostras em duplicata. Foi obtida a equação de regressão $y = 1,000x - 0,12$ e coeficiente de correlação $r = 1,000$. Utilizando esta equação o erro sistemático total estimado de -0,24% para um nível de 50 U/L e -0,12% para um nível de 100 U/L.

precisão: Foi determinada utilizando amostras em 03 níveis de decisão, sendo duas corridas em duplicata por dia durante 20 dias, sendo obtido:

Amostras (U/L)	Repetições	Precisão intra-corrida		Precisão total	
		SD	%CV	SD	%CV
42,801	80	0,662	1,5	2,374	5,5
123,638	80	1,390	1,1	2,717	2,2
241,257	80	2,723	1,1	3,906	1,6

%CV: Coeficiente de variação expresso em porcentagem; SD: Desvio Padrão

RISCOS RESIDUAIS, CUIDADOS E PRECAUÇÕES

- Utilizar os EPi's de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico.
- Não misturar reagentes de lotes diferentes.
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada.
- Não usar o reagente quando este apresentar característica visual em desacordo com o especificado na FISPQ do produto.
- Evitar deixar os reagentes fora das condições de armazenamento especificadas, quando os mesmos não estiverem em uso.
- Usar pipetas de vidro e ponteiros descartáveis específicas para cada amostra, controle, padrão/calibrador e reagente.
- O nível de água do banho-maria deve ser superior ao dos tubos de ensaio que contém as reações.

- O laboratório deve estabelecer os requisitos químicos, microbiológicos e de partículas para a água antes do seu uso para cada uma das suas aplicações e deve definir as especificações ou tipos de água que os atenda. Uma vez que a pureza necessária tenha sido definida, o sistema de purificação deve ser validado e é importante garantir que a água obtida continue a atender às especificações por meio de verificações periódicas.
- A limpeza e secagem adequadas do material usado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.

INTERVALO DE REFERÊNCIA

	37 °C (U/L)
Homens	< 55
Mulheres	< 38

Estes valores são unicamente para orientação, sendo recomendável que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

Conversão para Unidade do Sistema Internacional (SI):
 Gama GT (U/L) x 0,017 = Gama GT (μ Kat/L)

- MATERIAL NECESSÁRIO PARA REALIZAÇÃO DO ENSAIO**
- Espectrofotômetro ou fotômetro para leitura em 405 nm.
 - Banho de água, termostatizado a 37 °C.
 - Pipetas de vidro e/ou automáticas.
 - Relógio ou Cronômetro.
 - Tubos de ensaio.

- ALERTAS E PRECAUÇÕES COM RELAÇÃO AO DESCARTE DO PRODUTO**
- As informações de Descarte, Segurança e Primeiros Socorros estão descritas na Ficha Individual de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) deste produto, disponível em www.biotecnica.ind.br ou pelo telefone (35)-3214-4646.
 - Descartar as sobras das reações de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico (BPLC) e Programa de Gerenciamento de Resíduos de Serviço de Saúde (PGRSS).

GARANTIA DE QUALIDADE / SAC - SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes Biotécnica são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições especificadas. Os dados relativos ao Controle de Qualidade deste produto (lote impresso nas etiquetas dos frascos de reagentes) ou qualquer dúvida na utilização deste kit, entrar em contato com a Assessoria Científica da Biotécnica Ltda, através do telefone +55 35 3214 4646 ou pelo e-mail sac@biotecnicalltda.com.br

AUTOMAÇÃO
 Este procedimento é automatizável na maioria dos analisadores. Os protocolos estão disponíveis em www.biotecnica.ind.br

ENGLISH

INTENDED USE
 Kit for the quantitative determination of the enzymatic activity of γ -glutamyl transferase (GT Gamma) in serum and plasma. Use *in vitro* diagnostic.

STORAGE AND HANDLING

- Store at 2 to 8 °C.
- Protect from light.
- Stable until the kit expiration date that is printed on the label.
- Do not use reagents whose date has expired.

WORKING PRINCIPLE

The GT Gamma catalyzes the transfer of the glutamyl group of L- α -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide to glycyglycine, originating L- α -glutamylglycyglycine and 5-amino-2-nitrobenzoate. The catalytic concentration of the enzyme present in the sample is determined from the speed of formation of 5-amino-2-nitrobenzoate, measured at 405nm.



SAMPLES: TYPE, COLLECTION, HANDLING, PREPARATION AND PRESERVATION

Sample Type: Serum and Plasma (EDTA).
Collection, handling and preparation: Perform the sample collection according to Good Clinical Laboratory Practice. The samples to be analyzed should be treated as potentially infectious material.
Preservation: The GT Gamma in serum and plasma is stable for 30 days if stored at 4 to 8 °C and 1 year at -20 °C.

PRODUCT DESCRIPTION

R 1	TRIS buffer \geq 50 mmol/L; Glycylglycine \geq 50 mmol / L; preservative.	
R 2	L- γ -Glutamyl-3-carboxy-4-nitroaniline \geq 10 mmol / L; MÉS \geq 1 mmol / L; preservative.	

Traceable to the specific absorbance of the chromogen 5-amino-2-nitrobenzoate using calibrated pipettes and handheld spectrophotometer that provides absolute values, based on modified methodology from IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine).

STABILITY IN USE

- The stability of the product (R1 and R2) in use is 15 months, since that recommended storage conditions are followed (2 to 8 °C).
- The stability of the working reagent is 3 weeks, since under recommended conditions of storage and preparation (2 to 8 °C).
- Reagents should remain outside the specified temperature only for the time required to perform the tests.

TREATMENT AND HANDLING OF THE PRODUCT

A) REAGENT PREPARATION
Working Reagent (WR)
 Mix in the ratio: 4 parts of R1 + 1 part of R2. Homogenize gently.

B) OPERATING INTERVAL
 The operating range of the product is 4.00 U/L to 270 U/L.
 For higher values, dilute the sample with 150 mM NaCl (0.9%), carry out a new dosage and multiply the result obtained by the dilution factor.

QUALITY CONTROL

The use of controls should be routine practice in the laboratory. It is suggested to use one control in the reference range or at the decision level and another control with value in another range of clinical significance. For Calibration and Internal Quality Control Laboratory it is recommended to use the calibrator serum and the control sera below:

Calibrator Serum - Autocal H	13.002.00
Normal Control Serum - Quantinorm	13.003.00
Pathological Control Serum - Quantialt	13.004.00

TEST PROCEDURE, CALCULATION AND INTERPRETATION

A) TEST PROCEDURE

1. Preheat the Working Reagent for 3 minutes at 37 °C.
2. Zero the equipment at 405nm with purified water.
3. Pipette into test tube:

	Volume
Work Reagent	1.0 mL
Sample	100 μ L

4. Homogenize and insert it in the thermostated cuvette. Start the timer.
5. After 60 seconds, note the initial absorbance (A₀) and read again after exactly 1, 2 and 3 minutes (A₁, A₂ and A₃, respectively).

B) CALCULATIONS
 Using the absorbance readings, calculate the mean absorbance change per minute ($\Delta A/\text{min}$):

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

The catalytic activity of the GT Gama in the sample is calculated by multiplying the $\Delta A/\text{min}$ by the corresponding factor.

$$\text{GT Gama (U/L)} = \Delta A/\text{min} \times 1158$$

Example:
 A₀ = 1,160 A₁ = 1,189
 A₂ = 1,220 A₃ = 1,250

$$\Delta A/\text{min} = \frac{(1,189 - 1,160) + (1,220 - 1,189) + (1,250 - 1,220)}{3}$$

$\Delta A/\text{min} = 0,030$
 GT Gama (U/L) = 0,030 x 1158 = 34,7 U/L

C) INTERPRETATION
 The GT Gamma is present in the proximal renal tubule, liver, pancreas and intestine. The enzyme present in the serum originates primarily from the hepatobiliary system, however, increased GT Gamma activities occur concomitantly with the elevation of other biochemical parameters. Therefore, its analysis together with alkaline phosphatase, transaminases and bilirubins, is useful in the differential diagnosis of primary and secondary liver diseases. It is elevated in chronic alcoholics and individuals who make continuous use of anticonvulsants, such as phenytoin and phenobarbital.

INTERFERING AND LIMITATIONS

Hemolysis, Jaundice and Lipemia: Hemoglobin > 200 mg/dL / Bilirubin > 40 mg/dL / Triglycerides > 900 mg / dL.
Medications: consult recommended literature reference (Young, 2000).

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Sensitivity: Detection limit: 3.46 U/L / Limit of quantification: 4.00 U/L.

