Método
Szasz modificado (cinético).

Finalidade
Sistema para a determinação quantitativa da atividade da gama-glutamiltransferase (Gama GT) no soro ou plasma. **Somente para uso diagnóstico in vitro.**

Princípio
A gama-glutamiltransferase (Gama GT) catalisa a transferência do grupamento gamaglutamil da gamaglutamil-3-carboxi-4-nitroanilida para a glicilglicina formando gamaglutamilglicilglicina e p-nitroanilina, como a reação a seguir:

L-γ-Glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida + Glicilglicina $\xrightarrow{\text{Gama GT}}$ L-γ-glutamilglicilglicina + p-nitroanilina.

A p-nitroanilina apresenta elevada absorção em 405 nm e a quantidade liberada é diretamente proporcional à atividade da Gama GT presente na amostra.

Significado Clínico
A Gama Glutamil Transferase é uma enzima que está presente em praticamente todos os tecidos humanos, porém origina-se basicamente do Sistema Hepato Biliar. É um indicador sensível de doenças inflamatórias e de lesão hepática, estando expressivamente elevada nas doenças obstrutivas hepatobiliares. Com maior especificidade que a fosfatase alcalina (ALP) e a TGO (AST) para avaliar doença hepática, a Gama GT não se eleva na doença óssea como a ALP e nem nas doenças do músculo esquelético como constatado para AST.
A dosagem da Gama GT é adequada para especificar colestases mecânica e viral das induzidas por drogas. Nas colestases mecânica e viral, a Gama GT e ALP estão do mesmo modo elevadas. Nas colestases induzidas por drogas os valores da Gama GT são muito mais elevados. Os níveis de Gama GT encontram-se altos em pacientes que fazem uso prolongado de drogas que induzem o sistema microssomal hepático como o fenobarbital, fenitoína, entre outras. Valores elevados da atividade da Gama GT em pacientes com câncer são um seguro indicador de metástases hepáticas. Em casos de alcoolismo crônico, os níveis séricos da Gama GT diminuem com a abstinência do álcool e se elevam com a exposição ao mesmo. A dosagem da Gama GT é muito utilizada no acompanhamento de tratamentos de pacientes alcoólatras identificando os pacientes que voltaram a consumir álcool.

Reagentes
Reagente nº 1 - Tampão - Conservar entre 2 e 8ºC. Contém: Tampão Tris 132 mmol/L, Glicilglicina 138 mmol/L e Azida Sódica 15,4 mmol/L.(pH 8,0).
Reagente nº 2 - Substrato - Conservar entre 2 e 8ºC. Contém: L- γ - Glutamil-3-Carboxi-4-Nitroanilida 22 mmol/L e Azida Sódica 15,4 mmol/L.(pH 6,0).

Estabilidade, Condições de Armazenamento e Transporte
Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo do produto, quando conservados na temperatura recomendada (2 a 8°C), bem vedados e se evitado de contaminação durante o uso. Antes de serem abertos, os reagentes podem ser transportados em temperatura que não exceda 30°C, até um limite de 120 horas**. Não congelar.**

Cuidados Especiais e Precauções
• As amostras a serem analisadas devem ser tratadas como material potencialmente infectante.
• Utilizar os EPI's de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico.
• O Tampão (1) e o Substrato (2) contêm azida sódica que é tóxica e irritante para pele e mucosa.
• As informações de Descarte, Segurança e Primeiros Socorros estão descritas na Ficha Individual de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) deste produto, disponível em www.bioanalitica.com.br ou pelo telefone 0800 006 8111.
• Reagentes de lotes diferentes não devem ser misturados.
• Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada.
• Não utilizar os reagentes quando se apresentarem turvos.
• Evitar deixar os reagentes fora das condições de armazenamento especificadas, quando os mesmos não estiverem em uso.
• O tempo de reação, pipetagens e temperatura de trabalho são muito importantes para obtenção de resultados corretos.
• Usar pipetas de vidro e ponteiras descartáveis específicas para cada amostra, controle, padrão/calibrador e reagente.

Materiais Necessários e Não Fornecidos
• Analisador bioquímico automático e/ou semiautomático;
• Pipetas de vidro e/ou automáticas;
• Ponteiras;
• Tubos de ensaio;
• Cronômetro.

Amostra
Soro ou plasma (EDTA). O analito é estável por 7 dias armazenada entre 2 e 8°C, quando livres de contaminação.
Para descarte dos reagentes e materiais biológicos deve-se seguir as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

Interferências e limitações
Algumas drogas como o Álcool, Fenitoína, Fenobarbital e Sulfas podem elevar os valores de Gama GT. Os Anticoncepcionais podem reduzir os níveis de Gama GT.
Concentrações de bilirrubina até 18,0 mg/dL, triglicérides até 1216 mg/dL e ácido ascórbico até 20 mg/dL não produzem interferências significativas. Valores de hemoglobina maior que 200 mg/dL produzem interferências significativas nas amostras.

Procedimento Técnico
Para uso em analisadores automáticos, verificar o protocolo de automação no site www.bioanalitica.com.br ou através do SAC.

Nota: Recomendamos o uso do Calibrador – Ref. BA052 para calibração. Para avaliar a precisão das dosagens, recomendamos o uso do Controle N – Ref. BA115 e Controle P – Ref. BA118.

Preparo do Reagente de Trabalho
Misturar 4 mL do Reagente nº 1 – Tampão com 1 mL do Reagente nº 2 - Substrato. O Reagente de Trabalho é estável por 3 semanas entre 2 e 8°C. Manter o reagente fora da temperatura somente o tempo necessário para retirado do volume a ser utilizado.

Método Cinético Contínuo
Condições de Reação:
Cubeta termostatizada a 37°C com caminho ótico de 1 cm de espessura de solução. Comprimento de onda 405 nm. Banda de passagem ≤ 2 nm. Luz espúria ≤ 0,1.

Reação
Adicionar 50 µL de amostra a 1,0 mL de Reagente de Trabalho, misturar e transferir para cubeta termostatizada a 37ºC e esperar 1 minuto. Fazer a leitura inicial A_0, disparando simultaneamente o cronômetro. Efetuar novas leituras após 1, 2 e 3 minutos (A_1, A_2 e A_3). Calcular a média das diferenças de absorbância por minuto (ΔA/minuto). Utilizar este valor para cálculo do resultado. As diferenças entre as absorbâncias (ΔA/minuto) devem ser praticamente iguais, indicando a linearidade do método.

Cálculos
Usando as leituras das absorbâncias, calcular a média da variação da absorbância por minuto (ΔA/min).

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

Exemplo
$A_0 = 0{,}883$ $A_1 = 0{,}915$ $A_2 = 0{,}952$ $A_3 = 0{,}984$

$$\Delta A/min = \frac{(0{,}915 - 0{,}883) + (0{,}952 - 0{,}915) + (0{,}984 - 0{,}952)}{3} =$$

$\Delta A/min = 0{,}034$

Quando se é possível trabalhar sob as condições de reação descrita, usa-se o fator teórico de calibração: 2321.

Atividade da Gama GT (U/L) = 0,034 x 2321 = 79

Exemplo de cálculo do Fator
ΔA Calibrador = 0,028 Atividade do calibrador (U/L) = 65

$$\text{Fator: } = \frac{65}{0{,}028} = 2321$$

Os resultados deverão ser expressos em U/L.

Características do Desempenho
Comparação de Métodos
O método foi comparado com outro produto com metodologia semelhante através de 40 amostras de soro humano. Através de modelos estatísticos, os resultados foram analisados e resultaram na equação de regressão linear onde Método Bioanalítica (y) = -0,573+ 1,026* Método comparativo (x) e coeficiente de correlação igual a 0,991.

Sensibilidade
Uma amostra proteica não contendo Gama GT, foi utilizada para calcular o limite de detecção do ensaio. A média encontrada foi 1,4300 U/L equivalente a 20 determinações, com desvio padrão de 0,3718 U/L.
A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde à média mais 3 vezes o desvio padrão, que é igual a 2,5454 U/L.

Linearidade
A reação é linear até 1000 U/L. Para amostras com valores acima de 1000 U/L, diluir a amostra com Cloreto de Sódio 0,85%, repetir a dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

Repetibilidade
A repetibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (U/L)	5,96	44,53	234,12
Desvio Padrão (U/L)	0,13	0,57	2,09
Coeficiente de Variação (%)	2,12	1,27	0,89

Reprodutibilidade
A reprodutibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas durante 20 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (U/L)	5,99	35,24	234,04
Desvio Padrão (U/L)	0,10	1,94	2,33
Coeficiente de Variação (%)	1,66	5,51	1,00

Valores de Referência
Estes valores de referência devem ser usados apenas como orientação. Sugere-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores para população atendida. Os resultados dos testes devem ser analisados por um profissional responsável.

Prematuro	Homens	Mulheres
0 a 6 meses	12 - 122	12 - 132
6 a 12 meses	1 - 39	1 - 39
1 a 12 anos	3 - 22	4 - 22
13 a 18 anos	2 –42	4 – 24
Adultos	7 - 58	5 - 39

Unidade Convencional (U/L) x 16,7 = Unidade SI (nKat/L).

Controle Interno da Qualidade
O laboratório clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, para assegurar que todos os procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente definidos. Ressaltamos que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica, que deve ser monitorada pelos laboratórios. Portanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens. Sugere-se utilizar soluções estabilizadas da linha de controles e calibradores da Bioanalítica.

Observações
• A limpeza e secagem adequadas do material usado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
• A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes. A limpeza da vidraria deve ser feita com detergente neutro. O enxágue deve ser exaustivo sendo os últimos com água destilada ou deionizada.
• A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, a água deve ser do Tipo II, com resistividade > 1 megaohms/ cm ou condutividade < 1 microsiemens /cm e concentração de silicatos < 0,1 mg/L. Para o enxágue inicial da vidraria, a água pode ser do Tipo III, com resistividade > 0,1 megahoms ou condutividade < 10 microsiemens.
No enxágue final, utilizar água do Tipo II. Coluna deionizadora com sua capacidade saturada libera água alcalina, vários íons e também substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando de maneira imprevisível os resultados. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

Referências Bibliográficas
1 - IFCC Reference Procedure for the Measurement og Catalytic Concentration of γ-Glutamyltransferase. Clin Chem Lab Med 2002; 40:734-38.
2 - SZASZ, G., Clin., Chem., 1.969, 15, 124 - 136.
3 - IFCC Methods for gamma-glutamyl-transferase, J. Clin. Chem. Clin. Biochem.,21,663,1983.
4 - Westgard JO, Barry PL, Hunt MR. Clin Chem 1981;27:493-501.
5 - Schumann, G et al. “IFCC Primary Reference Procedures for the Measurement of Catalytic Activity Concentrations of Enzymes at 37°C.Part 6 - Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Concentration of γ−Glutamyltransferase. Clin.Chem.Lab.Med.2002;40:734-8.
7 - Kachmar JF, Moss DV. “Enzymes” in Fundamentals of Clinical Chemistry. Tietz NW (Ed) WB Saunders Co. Philadelphia 1976; page 621-3.
8 - Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition. 1990; 3: 183-5.
9 - Bioanalítica: Dados internos de arquivo do P&D.

Termos e Condições de Garantia
A Bioanalítica Diagnóstica garante o desempenho e a qualidade deste produto, dentro das especificações, até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que utilizados, armazenados e transportados nas condições adequadas.

Apresentação

Ref.	Volume	Reagente 1	Reagente 2
BA241-60	60 mL	2 x 24 mL	2 x 6 mL

Bioanalítica Diagnóstica S/A.
Rua Álvares da Silva, 12 - União
CEP: 31160-360 – Belo Horizonte MG - Brasil
Tel. +55 31 3657-0051
www.bioanalitica.com.br
E-mail: bioanalitica@bioanalitica.com.br
CNPJ: 20.264.948/0001-61 – Indústria Brasileira
SAC: 0800 006 8111
E-mail: sac@bioanalitica.com.br

Revisão: Junho / 2022.