

GGT (Reactivo Líquido)

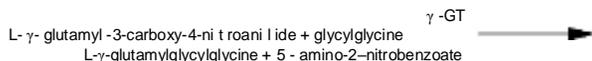
Uso:

Para la determinación cuantitativa cinética de γ -glutamyl transferasa en suero para procedimientos manuales y/o automatizados.

Resumen:

La gamma-glutamyl transferasa (γ -GT) es uno de un gran grupo de enzimas conocidas como peptidasas. Aunque el tejido renal tiene el mayor nivel de γ -GT, la fuente principal de la enzima presente en el suero es de origen hepático. Los niveles elevados de γ -GT se encuentran en asociación con trastornos hepatobiliares y pancreáticos; alcohólicos y bebedores pesados, en los trastornos de miocardio y en diabéticos.¹

A diferencia de la actividad de la fosfatasa alcalina, el suero de γ -GT actividad permanece normal en enfermedades que afectan a los huesos y durante el crecimiento normal de los huesos. Por lo tanto, un aumento en el suero γ -GT actividad puede considerarse como un indicador sensible y específica de la enfermedad de hígado de actividad de la fosfatasa alcalina. El procedimiento γ -GT ha sido optimizado de acuerdo a Szasz.



γ -GT cataliza la transferencia de un grupo γ -glutamyl desde de L- γ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide. La tasa de liberación de 5-amino-2-nitrobenzoate está directamente relacionada con la actividad de γ -GT en la muestra y se cuantifica midiendo el aumento en la absorbancia a 405nm.

Reactivos:

γ -GT Buffer (R1):	
Tris, pH 8.25	100mmol/L
Glycylglycine	100mmol/L
γ -GT Substrato (R2):	
L- γ -Glutamyl-3-Carboxy-4-Nitroanilide	4.0mmol/L

Precauciones:

Los reactivos son para "uso de diagnóstico in vitro". Precauciones normales para el manejo de reactivos de laboratorio deben ser seguidas. Los reactivos contienen azida de sodio que puede ser tóxico si se ingiere. La azida sódica puede reaccionar con cañerías de plomo y cobre formando azidas metálicas altamente explosivas. Consulte la Hoja de Datos de Seguridad del Material para cualquier información actualizada sobre riesgos, peligros o seguridad.

Preparación del Reactivo:

Los reactivos buffer y sustrato líquido se suministran listos para usar. Prepare el reactivo de trabajo en la relación de 5 partes de Buffer (R1) a 1 parte de sustrato (R2), (es decir, 25 mL de buffer y 5 mL de sustrato).

Almacenaje y Estabilidad del Reactivo:

Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad marcada en la etiqueta, cuando se almacenan a 2-8°C y protegido de la luz. R1 debe ser claro/incoloro mientras que R2 debe ser claro/amarillo. Descartar si se ve turbio o contiene partículas. El reactivo de trabajo es estable durante 4 semanas a 2-8°C o 5 días a temperatura ambiente (15-25°C). El reactivo de trabajo debe desecharse si la absorbancia inicial leída contra agua destilada a 405 nm, está por encima de 0.800.

Materiales Necesarios pero no Provistos:

1. Espectrofotómetro capaz de leer la absorbancia a 405nm y 1 cm. trayectoria de la luz.
2. Bloque de temperatura constante / baño, 37°C, o cubeta térmica.
3. Dispositivos de pipeteo precisos.
4. Tubos de ensayo.

5. Cronómetro para medir intervalos de tiempo.

Recolección y Almacenaje de la Muestra:

Suero o plasma EDTA, libre de hemólisis, se debe utilizar. Anticoagulantes complejos tales como citrato, oxalato y fluoruro deben evitarse ya que inhiben actividad de γ -GT. 2 La pérdida de actividad de γ -GT se minimiza mediante el almacenamiento de las muestras refrigeradas hasta 7 días o congelados hasta 2 meses. 3 Los niveles de bilirrubina de hasta 40mg/dL y triglicéridos hasta 2000 mg/dL no muestran ninguna interferencia en esta prueba.

Sustancias Interferentes:

γ -GT es una enzima inducible. Por lo tanto, los pacientes que están recibiendo fármacos antiepilépticos o aminopyrine muestran elevada actividad de γ -GT. El uso crónico de etanol también aumenta la actividad de γ -GT en suero.^{4,5} Ciertos fármacos y otras sustancias también son conocidas por afectar valores de γ -GT.⁶

Procedimiento Manual:

1. Preparar reactivo de γ -GT de acuerdo a las instrucciones.
2. Cero el espectrofotómetro a 405 nm con agua destilada.
3. Para cada muestra y control, añadir 1.0 mL de reactivo de trabajo a cada tubo de prueba o cubeta y se calienta a 37°C durante 3 minutos.
4. Añadir 100 μ L (0.10 mL) de suero a cada tubo respectivo y mezclar suavemente.
5. Leer y anotar la absorbancia a 1 minuto. Continuar la incubación a 37°C y registrar absorbancia a los 2 y 3 minutos. Tasa debe ser constante.
6. Determinar la absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{min.}$), se multiplica por el factor 1158 para obtener resultados en U/L.

Nota: Si la cubeta no está a temperatura controlada, incube las muestras a 37°C entre las lecturas.

Control de Calidad:

Se recomienda que los controles se incluyan en cada serie de pruebas. Material de control comercialmente disponible con valores establecidos de γ -GT pueden utilizarse para el control de calidad. El valor asignado del material de control debe ser confirmado por esta metodología. Si no se obtiene el rango apropiado de valores en la prueba de material de control puede indicar deterioro del reactivo, mal funcionamiento del instrumento o errores de procedimiento.

Calibración:

La actividad de γ -GT se basa en el "coeficiente de extinción micromolar" de 5-amino-2-nitrobenzoate a 405 nm (véase la sección "Resultados"). Las directrices del fabricante del instrumento de calibración se deben seguir para calibrar el analizador.

Resultados:

Los valores se derivan en base al "coeficiente de extinción absorbión micromolar" de 5-amino-2-nitrobenzoate a 405 nm (0.0095). Unidades por litro (U/L) γ -GT actividad es la cantidad de enzima que produce un mmol/l de 5-amino-2-nitrobenzoate por minuto.

$$U/L = \frac{\Delta A/\text{Min}}{\text{Absorción}} \times \frac{\text{Volumen Total}}{\text{Volumen de Muestra}}$$

$$U/L = \frac{\Delta A/\text{Min}}{0.95} \times \frac{1.10}{0.10}$$

$$U/L = \Delta A/\text{Min} \times 1158$$

Limitaciones:

Si el $\Delta A/\text{min.}$ es mayor que 0.259, diluir 1 parte de muestra con 5 partes de solución salina isotónica y hacer de nuevo la prueba. Multiplicar el resultado por 6.

Valores Esperados:

Rango Normal: Hombres: 0-50U/L (37°C)
Mujeres: 0-30U/L (37°C)

Este rango debe servir sólo como una guía. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de valores esperados, ya que

existen diferencias entre instrumentos, laboratorios y poblaciones locales.

Características de Rendimiento:

1. Comparación: Un grupo de 63 sueros que van en actividad de γ -GT de 15-714U/L se probaron por el método descrito de γ -GT y por un método de γ -GT similar disponible comercialmente. La comparación de los resultados obtuvo un coeficiente de correlación de 1.000 y la ecuación de regresión fue $y = 0.94x + 1.9$. (Los estudios de comparación se llevaron a cabo según las directrices de (NCCLS Provisional EP9-T).
2. Precisión: precisión dentro de la corrida fue establecida por 20 pruebas en tres diferentes niveles de sueros control comercial. Los valores totales de precisión se han obtenido mediante la prueba de los 3 controles comerciales durante 5 días consecutivos.

Entre Corridos:

	Suero 1	Suero 2	Suero 3
Promedio γ -GT (U/L)	40	74	206
Desviación Estándar (U/L)	1.0	0.9	1.3
C.V. (%)	2.5	1.2	0.6

Precisión Total:

	Suero 1	Suero 2	Suero 3
Promedio γ -GT (U/L)	42	72	204
Desviación Estándar (U/L)	0.6	0.6	0.7
C.V. (%)	1.5	0.9	0.4

Los estudios de precisión se realizaron de acuerdo a la Directriz Provisional NCCLS, EP5-T.

3. Linealidad: Lineal a 300U/L a 37°C. Realizado según las directrices de NCCLS EP6-P.

4. Sensibilidad: Basado en una resolución de instrumento de $A = 0.001$, el método presentado muestra una sensibilidad de 1.0 U/L.

Referencias:

1. Tietz, N.W. Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia, PA, p. 622 (1976)
2. Whitfield, JB, Moss DW, Neale, G, Orme, M and BreckenSanzaye, A, Brit Med J 1, 316, 1973
3. Rosalki SB, Rau D, Lehman D, Prentice M: Determination of γ -glutamyltranspeptidase activity and its clinical applications. Ann Clin Biochem 7: 143, 1970
4. Rosalki SB, Tarlow D, Rau D: Plasma γ -glutamyltranspeptidase elevation in patients receiving enzyme inducing drugs, Lancet 2: 376 1971
5. Bartels H, Hauck W, Vogel I: aminopyrine an effective modifier of liver and serum γ -glutamyltranspeptidase. J Pediatr 86: 298, 1975
6. Young DS, Effects of drugs on clinical laboratory tests. AACC Press, Washington D.C. 1990
7. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia, PA, p. 851 (1994).

