

γ -GLUTAMIL TRANSPEPTIDASA (Szasz)

Reactivo líquido para la determinación fotométrica de γ -GT en suero.



Para uso en el diagnóstico *in Vitro*. Apto para usar en autoanalizador.

SIGNIFICANCIA CLINICA

La enzima γ -GT forma parte del grupo de las llamadas peptidasas. Su función es catalizar la transferencia del grupo γ -glutamilo desde un péptido a otro.

A pesar de que la mayor concentración de γ -GT se encuentra localizada en el riñón, la mayor fuente de la enzima presente en el suero es el hígado. Niveles elevados de γ -GT se encuentran asociados a enfermedades hepato biliares y pancreáticas; alcohólicos, en enfermedades al miocardio y en los diabéticos.

FUNDAMENTOS DEL METODO

El método VALTEK® se basa en la proposición de Szasz y la modificación efectuada por Rosalki, utilizando un sustrato sintético, γ -glutamilo-p-nitroanilida (GGPNA) y glicilglicina como activador.



La γ -GT cataliza la transferencia del grupo γ -glutamilo desde el sustrato GGPNA a la glicilglicina. La velocidad de liberación de la p-nitroanilida es directamente proporcional a la actividad de la γ -GT en la muestra, y se cuantifica midiendo el aumento de la absorbancia a 405 nm.

REACTIVOS

Conservados entre 2° y 8°C. y protegidos de la luz, estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Composición de los Reactivos:

Reactivo 1:	
Glicilglicina	150 mM
Buffer TRIS (pH 8,2±0,1)	120 mM
Estabilizantes y preservantes	c.s.

Reactivo 2:	
Buffer Acetato (pH 4,8±0,1)	50 mM
γ -Glutamilo-p-nitroanilida	4,00 mM

Preparación del Reactivo de Trabajo: Mezclar 1 mL. de Reactivo 1 con 200 ul. de Reactivo 2 o preparar el volumen requerido manteniendo la proporción.

Estabilidad del reactivo de trabajo: 3 días entre 2° y 8°C.

Descartar el reactivo si su absorbancia es mayor de 0,85 O.D. a 405 nm. contra blanco de agua y paso de luz de 1 cm o presenta turbidez.

MUESTRA

Utilizar suero fresco. Los anticoagulantes, particularmente el fluoruro, citrato y oxalato, inhiben la actividad de la γ -GT.

La γ -GT es estable por 8 horas a temperatura ambiente, 3 días entre 2° y 8°C y una semana a -20°C.

MATERIAL NECESARIO NO INCLUIDO

Espectrofotómetro manual o automático o fotocolorímetro de filtros con cubeta termoestable, capaz de medir absorbancia a 405 nm, baño termoregulado, cronómetro, pipetas, calibrador y sueros controles.

TECNICA

Llevar el reactivo a la temperatura que se realizará el ensayo (30° ó 37° C.). Las pipetas a utilizar deben estar limpias y libres de residuos para no contaminar el reactivo.

	Calibrador	Muestra
Muestra (mL)	--	0.05
Calibrador (mL)	0.05	--
Reactivo de trabajo (mL)	1.00	1.00

Mezclar e incubar por 30 segundos. Leer las absorbancias inicial ajustando a cero el espectrofotómetro contra blanco de agua y repetir la lectura a intervalos de 60 segundos por los próximos 3 minutos.

Adaptaciones para la aplicación de este reactivo en autoanalizadores están disponibles a solicitud. Es responsabilidad del laboratorio validar esta aplicación.

CALIBRACION

- En la calibración se recomienda utilizar calibrador sérico VALTROL-C (código 210-130), proceder de igual forma que con las muestras.
- Se recomienda recalibrar en cualquier momento que se evidencie alguno de estos acontecimientos:
 - El lote de reactivo cambia
 - Se realiza un mantenimiento preventivo del equipo
 - Los valores de control han cambiado o se encuentran fuera de escala.

CALCULOS

Determine el cambio de Absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{min}$) tanto para el calibrador como para las muestras.

Factor = $\frac{\text{Concentración Calibrador}}{\text{Abs. Calibrador}}$
$\gamma\text{-GT (UI/I)} = \text{Factor} \times \text{Abs. Muestra}$

O bien se puede utilizar el siguiente factor:

Actividad $\gamma\text{-GT (UI/I)} = \Delta \text{ Abs/min} \times 2121$
--

$$\text{FACTOR} = \frac{V_t \times 1000}{\sum_{\text{p-NA } 405} \times P \times V_m} = 2121$$

V_t = Volumen total de reacción

$\sum_{\text{p-NA } 405}$ = Coef. de extinción molar de la p-NA a 405 nm

P = Espesor del paso de luz en la cubeta

V_m = Volumen de muestra

CONTROL DE CALIDAD

- Es conveniente analizar junto con las muestras sueros controles valorados para γ -glutamyl transpeptidasa por este método. Se recomienda la utilización de los sueros controles VALTROL-N (código 210-100) y VALTROL-P (código 210-110).
- Si los valores obtenidos para los controles se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, el reactivo y el calibrador.
- Cada laboratorio debe disponer de su propio Control de Calidad y establecer las correcciones necesarias en caso de que no se cumpla con las tolerancias permitidas para los controles.

ADVERTENCIAS Y MEDIDAS DE PRECAUCION

- Los volúmenes indicados pueden ser alterados proporcionalmente sin alterar los resultados.
- Las drogas anticonvulsivas pueden elevar falsamente los valores de la γ -GT.
- Los rangos normales deben informarse de acuerdo a la temperatura a la cual se realiza el ensayo.
- Consultar en nuestra página WEB la ficha de seguridad de este reactivo y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación y eliminación de residuos.
- Contiene Azida de Sodio 0.05% (Nº CAS 26628-22-8) No peligroso a esta concentración. No ingerir. En contacto con metales pesados, como tuberías de cobre o plomo, podría formar azida metal que es explosiva, elimine los residuos con grandes volúmenes de agua y/o de conformidad con las regulaciones locales.
- En autoanalizadores debe utilizarse contenedores de reactivos nuevos.

ESPECIFICACIONES DE DESEMPEÑO

-Linealidad: hasta 400 U/L.

Para valores superiores 400 U/L, diluir la muestra con suero fisiológico y el resultado obtenido se multiplica por el factor de dilución.

-Límite de detección: 2 U/L.

- Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0.0004 Δ A/min

-Interferencias: Hemoglobina sobre 0,5 gr/dL, bilirrubina sobre 10 mg/dL y la lipemia (triglicéridos sobre 400 mg/dL) podrían interferir en la técnica. Otros medicamentos y sustancias podrían interferir (6).

-Exactitud: Los reactivos VALTEK no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales. Los detalles del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.

-Repetibilidad intraserie: n=20

Nivel	Media (U/L)	C.V.
Normal	40	1,51%
Patológico	177	1,75%

-Reproducibilidad interserie: n=20

Nivel	Media (U/L)	C.V.
Normal	40	2,47 %
Patológico	175	1,68%

Estos datos han sido obtenidos utilizando un autoanalizador MINDRAY de la serie BS. Los resultados pueden variar al cambiar de instrumento o al realizar el procedimiento manualmente.

-Certificado de Conformidad y Trazabilidad disponible a solicitud

RANGOS DE REFERENCIA

Cada laboratorio debe establecer sus propios rangos de referencia en función de la población de pacientes. Los rangos de referencia que se enumeran a continuación están tomados de la bibliografía existente.

Temperatura medición	25°C	30°C	37°C
Hombres (UI/L)	5 a 25	7 a 34	10 a 45
Mujeres (UI/L)	4 a 16	6 a 22	7 a 32

PRESENTACIONES DISPONIBLES

CODIGO	CONTENIDO	
107-150	Reactivo 1	3 x 50 mL
	Reactivo 2	1 x 31 mL
300140	Reactivo 1	4 x 40 mL
	Reactivo 2	2 x 16 mL
200140	Reactivo 1	4 x 40 mL
	Reactivo 2	2 x 16 mL

BIBLIOGRAFIA

1. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd Ed., W.B.Saunders, Philadelphia, PA., 1976.
2. Szasz, G., Clin. Chem. 15 (24), 1969.
3. Rosalki, S.B., et al., Ann. Clin. Biochem. 7(143), 1970.
4. Young, D.S., et al., Clin. Chem. 20(10), 1975.
5. Rosalki, S.B., et al., Clin. Chem. 20(1121), 1974.
6. Young D.S., effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.

REV Nº 3