

Reactivo de Gamma GT

Líquido de dos partes

RESUMEN DEL PRODUCTO

Estabilidad	:	Hasta fecha caducidad a 2-8°C
Intervalo Lineal	:	Hasta 1200 U/L (20,0 µkat/L)
Tipo de muestra	:	Suero
Método	:	Cinético
Preparación del reactivo	:	Suministrado listo para su uso.

IVD

PREVISTO

Este reactivo está pensado para la determinación cuantitativa in vitro de la gamma-glutamyltransferasa (GGT) [(γ-glutamyl)-péptido: aminoácido γ-glutamyltransferasa, EC2.3.2.2], en el suero humano en sistemas tanto manuales como automáticos.

RELEVANCIA CLÍNICA

Aunque la GGT está presente en una variedad de tejidos, la enzima sérica parece originarse principalmente en el sistema hepatobiliar. Consecuentemente, la GGT se encuentra en concentraciones elevadas en todas las formas de enfermedad o daño hepático. Resulta útil clínicamente para detectar la ictericia obstructiva, la colangitis y la colecistitis.

También aparecen niveles elevados como consecuencia del consumo de drogas (alcohol, sedantes, anticonvulsivos y tranquilizantes).¹

METODOLOGÍA

Los primeros métodos cinéticos disponibles comercialmente para la determinación de la GGT estaban basados en el trabajo de Szasz², Rosalki y Tarlow³. Estos métodos utilizaron γ-glutamyl-p-nitroanilida (Glu-4-NA) como sustrato, aunque la mala solubilidad y estabilidad de la Glu-4-NA constituyó una enorme limitación. Con objeto de mejorar el método, Persijn⁴ llevó a cabo investigaciones adicionales con derivados de la Glu-4-NA y encontró que la γ-glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida (Glucana) mostraba un comportamiento mejor que la Glu-4-NA con respecto tanto a la solubilidad como a la estabilidad. En la actualidad el sustrato Glucana forma la base de los procedimientos recomendados por la IFCC y por el ECCLS.

El método GGT líquido de 2 partes utiliza Glucana en la siguiente reacción, que se inicia con la adición de la muestra. La GGT presente en la muestra cataliza la transferencia del grupo glutámico desde el sustrato hasta glicilglicina formando glutamylglicilglicina y 5-amino-2-nitrobenzoato.

L-γ-glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida + glicilglicina



L-γ-glutamylglicilglicina + 5-amino-2-nitrobenzoato

La velocidad de formación de 5-amino-2-nitrobenzoato es proporcional a la actividad de la GGT presente en la muestra y se puede medir cinéticamente a 405 nm.

COMPOSICIÓN DEL REACTIVO

Componentes activos

Reactivo 1:

Componentes activos	Concentración
Glicilglicina	130 mmol/L
Cloruro sódico	65 mmol/L

También contiene estabilizantes y cargas no reactivos.

Reactivo 2:

L-γ-glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida	20 mmol/L
---------------------------------------	-----------

pH 8,15 ± 0,1 a 20°C.

AVISO: No ingerir ni inhalar los vapores. Evite el contacto con la piel, los ojos y las membranas mucosas. En caso de contacto, lave abundantemente las áreas afectadas con agua. El reactivo contiene azida de sodio que puede reaccionar con las tuberías de cobre y de plomo. Añada una gran cantidad de agua antes de verterlo. Para información adicional consulte la Hoja de Datos de Seguridad del reactivo líquido de GGT de dos partes.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Los reactivos se suministran listos para su uso.

SÍMBOLOS EN EL ETIQUETADO DEL PRODUCTO

EC REP	Representante autorizado		Limitación de temperatura
IVD	Para uso en diagnósticos in vitro		Usar hasta/Fecha de caducidad
LOT	Código de lote/Número de lote		PRECAUCIÓN. Consulte las instrucciones de uso.
REF	Número de catálogo		Fabricado por
	Consulte las instrucciones de uso	REAG 1	Reactivo 1 (R1)
REAG 2	Reactivo 2 (R2)		

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

Antes del uso:

Cuando se almacenan entre 2 y 8°C, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en las etiquetas del frasco y de la caja del kit.

Una vez que se ha abierto el reactivo:

Cuando se almacenan cerrados entre 2 y 8°C, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en las etiquetas del frasco y de la caja del kit.

El reactivo combinado es estable durante al menos 6 semanas si se almacena a 2-8°C.

Indicaciones del deterioro del reactivo:

- Turbidez;
- Absorbancia del reactivo > 1,2 AU a 405 nm (paso de luz de 1 cm); y/o
- Imposibilidad de recuperar los valores de control dentro del intervalo asignado.

RECOGIDA Y MANEJO DE LAS MUESTRAS

Suero: Use suero no hemolizado.

Almacenamiento: Cuando se almacena a 2-8°C, la GGT es estable durante 7 días.

EQUIPOS ADICIONALES NECESARIOS PERO NO PROPORCIONADOS

- Un analizador químico clínico capaz de mantener una temperatura constante (37°C) y de medir la absorbancia a 405 nm.
- Consumibles específicos del analizador, por ejemplo: copas de muestra.
- Material de control de ensayos normales y anormales.

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Se recomiendan los siguientes parámetros del sistema. El Grupo de Soporte Técnico suministra aplicaciones de instrumentos individuales tras solicitud.

PARÁMETROS DEL SISTEMA

Temperatura	30/37°C
Longitud de onda	405 nm (405-420 nm)
Longitud de onda secundaria	660 nm (600 - 660 nm)
Tipo de ensayo	Velocidad/cinética
Dirección	Incremento
Muestra: Proporción de reactivo	1 : 32 (R1) : 8 (R2)
p.ej. Vol de muestra	5 µL
Vol de reactivo 1	160 µL
Vol de reactivo 2	40 µL
Tiempo de retardo (muestra + R1)	≤ 5 minutos
Tiempo de retraso (muestra + R1 + R2)	> 60 segundos
Tiempo de lectura	3-4 minutos
Límites del blanco de reactivo	Bajo 0,0 AU
(405 nm, paso de luz de 1cm)	Alto 1,2 AU
Linealidad	Hasta 1200 U/L
(consulte la sección de Linealidad)	(20,0 µkat/L)
Sensibilidad Analítica	0,23 ΔA/min por U/L
(405 nm, paso de luz de 1cm)	(13,8 ΔA/min por µkat/L)

CÁLCULOS

Los resultados se calculan, en general, de forma automática por el instrumento, como sigue:

Actividad en U/L = ΔAbs/min x Factor

$$\text{Factor} = \frac{\text{TV} \times 1000}{9,5 \times \text{SV} \times \text{P}}$$

Donde:

- TV = Volumen total de reacción en mL
 SV = Volumen de la muestra en mL
 9,5 = coeficiente de absorción milimolar del 5-amino-2-nitrobenzeno a 405 nm
 P = Longitud del paso de la cubeta en cm.

Ejemplo:

- Δ Abs/min = 0,046
 Factor = 4316
 GGT = $0,046 \times 4316 = 199$ U/L

NOTAS

- Los volúmenes del reactivo y de la muestra se pueden alterar de forma proporcional para acomodarse a los diferentes requerimientos del espectrómetro.
- Si el cambio en la absorbancia es mayor de 0,27/min, repita el ensayo con menos muestra o diluya la muestra con una disolución de NaCl al 0,9%. Acuérdesse de ajustar el factor para el menor volumen de muestra o multiplicar el resultado final por el factor de dilución.
- Conversión de unidades:
 $U/L \times 16,67 \times 10^{-3} = \mu\text{kat/L}$.
- Con la mayor parte de las muestras no se observa fase de retardo.

CALIBRADO

No requerida. La velocidad de reacción se convierte a U/L de actividad por medio de un factor de cálculo. Consulte la sección de calibración de este folleto.

CONTROL DE CALIDAD

Para asegurar un control de calidad adecuado, se deberían introducir controles normales y anormales con valores ensayados como muestras desconocidas:-

- Al menos cada ocho horas.
- Cuando se use una nueva botella de reactivo.
- Después de realizar un mantenimiento preventivo o sustituir un componente crítico.

Los resultados de control que caen por encima del límite superior o del límite inferior del intervalo establecido indican que el ensayo puede estar fuera de control.

En tales situaciones se recomiendan las siguientes acciones correctoras:

- Repetir los mismos controles.
- Si los controles repetidos están fuera de los límites, preparar suero de control fresco y repetir la prueba.
- Si los resultados del material de control fresco aún permanecen fuera de los límites, repita la prueba con reactivo fresco.
- Si los resultados aún están fuera de control, contacte con el Servicio Técnico o con su distribuidor local.

LIMITACIONES

- Se llevaron a cabo estudios para determinar el nivel de interferencia debida a la hemoglobina, bilirrubina y lipemia. Se obtuvieron los siguientes resultados:
Hemoglobina: No se observa interferencia debida a la hemoglobina hasta 59 $\mu\text{mol/L}$ (500 mg/dL).
Bilirrubina libre: No se observa interferencia debida a la bilirrubina libre hasta 275 $\mu\text{mol/L}$ (16,3 mg/dL).
Bilirrubina conjugada: No se observa interferencia debida a la bilirrubina conjugada hasta 290 $\mu\text{mol/L}$ (17,1 mg/dL).
Lipemia: No se observa interferencia debida a la lipemia, medida como triglicéridos, hasta 5,6 mmol/L (500 mg/dL).
- Young DS[®] ha publicado una amplia lista de medicamentos y sustancias que pueden interferir con este ensayo.

VALORES ESPERADOS⁹

- A 37°C: Hombres: < 50 U/L (0,835 $\mu\text{kat/L}$)
 Mujeres: < 30 U/L (0,501 $\mu\text{kat/L}$)

Los valores indicados son representativos del intervalo esperado para este procedimiento y únicamente deberían servir como guía. Se recomienda que cada laboratorio verifique este intervalo o derive un intervalo de referencia para la población que atiende.⁹

DATOS DE COMPORTAMIENTO

Los siguientes datos se obtuvieron usando el reactivo líquido de GGT de dos partes en un analizador químico clínico automatizado con un buen mantenimiento. Los usuarios deberían establecer un comportamiento del producto en su analizador específico usado.

IMPRECISIÓN

La imprecisión se evaluó usando dos niveles de controles comerciales y siguiendo el procedimiento NCCLS EP5-T.⁷

Intra análisis:	NIVEL I	NIVEL II
Número de puntos de datos	80	80
Media (U/L)	26	95
Media ($\mu\text{kat/L}$)	0,434	1,59
DD (U/L)	0,51	0,96
DD ($\mu\text{kat/L}$)	0,008	0,016
CV (%)	1,9	1,0

Total:	NIVEL I	NIVEL II
Número de puntos de datos	80	80
Media (U/L)	26	95
Media ($\mu\text{kat/L}$)	0,434	1,59
DD (U/L)	1,33	2,58
DD ($\mu\text{kat/L}$)	0,022	0,043
CV (%)	5,0	2,7

COMPARACIÓN DEL MÉTODO

Los estudios de comparación se llevaron a cabo usando otro reactivo de GGT similar disponible comercialmente. Se ensayaron las muestras de suero en paralelo y los resultados se compararon mediante una regresión de cuadrados. Se obtuvieron las siguientes estadísticas:

Número de muestras	62
Intervalo de resultados de las muestras	8 a 700 U/L (0,134 - 11,7 $\mu\text{kat/L}$)
Media de los resultados de los procedimientos de referencia	70 U/L (1,17 $\mu\text{kat/L}$)
Media de los resultados de GGT	72 U/L (1,20 $\mu\text{kat/L}$)
Pendiente	1,05
Intersección	-0,88 U/L (-0,015 $\mu\text{kat/L}$)
Coefficiente de correlación	0,999

LINEALIDAD

Cuando se realiza según las recomendaciones, el ensayo resulta lineal hasta 1200 U/L (20,0 $\mu\text{kat/L}$).


SENSIBILIDAD ANALÍTICA

Cuando se realiza según las recomendaciones, la sensibilidad de este ensayo es de 0,23 $\Delta\text{mAbs/min}$ por U/L (13,8 $\Delta\text{mA/min}$ por $\mu\text{kat/L}$).

BIBLIOGRAFÍA

- Kachmar JF, Moss DV. "Enzymes" in Fundamentals of Clinical Chemistry. Tietz NW (Ed) WB Saunders Co. Philadelphia 1976; page 621-3.
- Szasz G. Clin Chem 1969; 15: 124-36.
- Rosalki SB, Tarlow D. Clin Chem 1974; 20: 1121-4.
- Persijn JP and van der Slik W. J.Clin.Chem.Clin Biochem. 1976; 14: 421-7.
- Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition. 1990; 3: 183-5.
- Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. NCCLS; 1984, NCCLS Publication EP5-T.

© 2009 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. Hitachi is a registered trademark of Roche Diagnostics, Indianapolis, IN 46250. ILab 600 is a registered trademark of Instrumentation Laboratory Company, Lexington, MA 02421. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

 Fisher Diagnostics
 a division of Fisher Scientific Company, LLC
 a part of Thermo Fisher Scientific Inc.
 Middletown, VA 22645-1905 USA
 Phone: 800-528-0494
 540-869-3200
 Fax: 540-869-8132

 MDCI Ltd.
 Arundel House
 1 Liverpool Gardens
 Worthing, West Sussex BN11 1SL UK
 840395 (R1)



REF

Información de Pedidos**No de Catalogue**

	REAG 1	REAG 2
TR19320	1 x 125 mL	1 x 35 mL
TL19301 (ILab 600)	5 x 80 mL	5 x 20 mL
TY19301 (Hitachi)	4 x 50 mL	4 x 14 mL
7500-116A	4 x 500 mL	
7500-216A		2 x 250 mL