



γ -GLUTAMILTRANSFERASA - SL

Números de catálogo: 324-10
324-30
324-50A
324-50B

Presentación: R1: 1 x 100 mL, R2: 1 x 25 mL
R1: 3 x 100 mL, R2: 1 x 75 mL
R1: 1 x 1000 mL
R2: 1 x 300 mL

USO

Para la determinación cuantitativa in vitro de γ -glutamyltransferasa (γ -GT o GGT) en suero.

PRECAUCIONES

Evite su ingestión y el contacto con la piel y los ojos. Vea la Hoja de Seguridad del Producto.

REACTIVOS

Reactivo Amortiguador de γ -GT-SL (R1): una solución que contiene amortiguador (pH 8.3 a 25°C), 100 mmol/L de glicilglicina y un conservador.

Reactivo Sustrato de γ -GT-SL (R2): solución que contiene 4 mmol/L de L- γ -glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida.

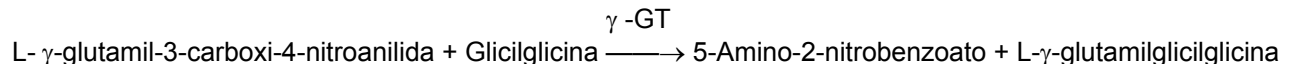
ANTECEDENTES

La γ -glutamyltransferasa (γ -GT) fue inicialmente purificada y caracterizada por Szewczuk y Baromouski (1). La γ -GT cataliza la transferencia del grupo γ -glutamyl de un péptido γ -glutamyl a un aminoácido de otro péptido.

Las determinaciones de su actividad se utilizan en el diagnóstico de enfermedades hepáticas como la cirrosis alcohólica y tumores hepáticos primarios y secundarios. (2)

Las determinaciones de γ -GT utilizando L- γ -glutamyl-*p*-nitroanilida como sustrato fueron introducidas por Orłowski y Meizler (3) y adaptadas para determinaciones en suero por Szasz (4). El método fue modificado por Persijn y Vanderslik (5) para utilizar un sustrato más soluble, la L- γ -glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida. Los reactivos en esta prueba utilizan un sustrato carboxilado para la detección de γ -GT siguiendo una modificación de procedimiento cinético rápido de γ -GT sérica de la Federación Internacional de Química Clínica. (6)

PRINCIPIO



La gamma-glutamyltransferasa cataliza la transferencia del grupo glutamyl de la L- γ -glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida a glicilglicina formando L- γ -glutamylglicilglicina y 5-amino-2-nitrobenzoato. Este último se absorbe fuertemente a 405 nm. La formación de este producto es proporcional a la actividad de la y se mide cinéticamente a 405 nm.

PREPARACION DEL REACTIVO

El reactivo suministrado está listo para su uso. Puede prepararse un solo reactivo de trabajo al combinar 4 partes de reactivo amortiguador de γ -GT-SL (R1) con una parte de reactivo sustrato de γ -GT-SL (R2).

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO DEL REACTIVO

Los reactivos suministrados son estables hasta la fecha de caducidad especificada en las etiquetas a 2-8°C. El reactivo de trabajo es estable por 30 días a 2-8°C.

DETERIORO DEL REACTIVO

Las soluciones de reactivo deben ser claras. Una turbidez indicaría deterioro.

INSTRUMENTOS

Puede usarse cualquier instrumento con control de temperatura de $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ que sea capaz de leer la absorbancia con exactitud, con una sensibilidad de 0.001 de absorbancia a 405 nm. El ancho de banda deberá ser de 10 nm o menos, la desviación de luz de 0.5% o menos y la exactitud de longitud de onda dentro de 2 nm.

RECOLECCION Y PREPARACION DE LA MUESTRA

La muestra de elección es suero fresco, claro y no hemolizado. Las muestras son estables (cambio en la actividad menor de 10%) por 2 días a 18-26°C.

SUBSTANCIAS DE INTERFERENCIA

Se ha reportado que algunos medicamentos antiepilépticos (fenitoína, barbituratos) producen una elevación falsa de las concentraciones de γ -GT. (8)

Se evaluaron las interferencias por ictericia, lipemia y hemólisis para este método de γ -GT en un analizador Hitachi utilizando un criterio de significancia de variación $>10\%$ a partir del control.

No se encontró interferencia importante por ictericia a concentraciones de bilirrubina de 0-684 $\mu\text{mol/L}$ (0-40 mg/dL) en una muestra de γ -GT de 71 U/L.

No se encontró interferencia importante por lipemia a concentraciones de intralípidos de 0-1000 mg/dL [0-33.87 mmol/L (3000 mg/dL) de triglicéridos] en una muestra de γ -GT de 64 U/L.

Se estudiaron niveles de hemoglobina de 0-155 $\mu\text{mol/L}$ (0-1000 mg/dL) con resultados aceptables a una concentración de 31 $\mu\text{mol/L}$ (200 mg/dL). A una concentración de hemoglobina de 31 $\mu\text{mol/L}$ (200 mg/dL) se obtuvo una interferencia negativa de 10% en una muestra de γ -GT de 64 U/L.

Se puede encontrar un resumen de la influencia de drogas en pruebas de laboratorio clínico consultando a Young, D.S. (9).

PROCEDIMIENTO

Materiales Proporcionados

Se incluyen los reactivos necesarios para la determinación de γ -GT.

Materiales Requeridos

1. Un instrumento que reúna los requisitos mencionados en la sección de Instrumentos.
2. Cubetas de 1 cm o una celda de flujo capaz de transmitir luz a 405 nm.
3. Tubos de ensayo del tamaño adecuado
4. Pipetas del tamaño adecuado
5. Un cronómetro adecuado
6. Un baño de agua adecuado

Condiciones

	Genéricas	Analizador automatizado
Longitud de onda	405 nm	405 nm
Temperatura	37°C	37°C
Paso de luz	1 cm	
Tipo de reacción	Cinética	Cinética
Tiempo de reacción	5 minutos	10 minutos
Volumen de la muestra	100 μL	10 μL
Volumen de reactivo	1.0 mL	R1 280 μL ; R2 70 μL
Volumen total	1.1 mL	360 μL
Relación muestra/reactivo	1/10	1/35

Procedimiento

1. Prepare el volumen requerido de reactivo de trabajo como se indicó en Preparación de Reactivo.
2. En tubos de ensayo por separado, pipetee 100 μL del suero a analizar.
3. Agregue 1.0 mL del reactivo, mezcle e incube por 2 minutos a 37°C.
4. Registre el cambio en absorbancia a 405 nm a intervalos de 1 minuto hasta que el cambio de la absorbancia sea constante. El tiempo de la prueba se reducirá si el reactivo es precalentado a la temperatura de incubación.

CALIBRACION

No se requiere de un estándar para calibrar el procedimiento de γ -GT. Los resultados son calculados usando el coeficiente de extinción molar y la fórmula dada. Véase Cálculos y Resultados.

CONTROL DE CALIDAD

Se deben analizar un suero control con nivel normal y otro anormal con cada corrida de muestras y los resultados deberán caer dentro de ± 2 desviaciones estándar del valor establecido.

CALCULO Y RESULTADOS

Resultados

La actividad de la γ -GT se expresa en U/L.

Cálculo

$$\begin{aligned}\gamma\text{-GT U/L} &= \frac{\Delta A/\text{min} \times \text{volumen del análisis (mL)} \times 1000}{9.5 \times \text{paso de luz (cm)} \times \text{volumen de la muestra (mL)}} \\ &= \Delta A/\text{min} \times 1158\end{aligned}$$

$\Delta A/\text{min}$	= cambio en absorbancia por minuto
Volumen del análisis	= volumen total de la reacción expresado en mL
1000	= convierte las U/mL a U/L
9.5	= coeficiente de absorbancia de la p-nitroanilina a 405 nm
Paso de luz	= longitud del paso de luz expresada en cm. (usualmente 1.0)
Volumen de muestra	= volumen de la muestra expresado en mL
1158	= factor derivado de las constantes en la ecuación

Ejemplo

$$\begin{aligned}\gamma\text{-GT U/L} &= \frac{0.041 \times 1.1 \times 1000}{9.5 \times 1 \times 0.2} \\ &= 0.041 \times 1158 \\ &= 47.5 \text{ U/L}\end{aligned}$$

0.041	= cambio en absorbancia por minuto
1.1	= volumen de la reacción total expresado en mL
1000	= convierte U/mL a U/L
9.5	= coeficiente de absorbancia de la p-nitroanilina a 405 nm
1	= distancia del paso de luz expresada en cm
0.2	= volumen de la muestra expresada en mL
1158	= factor derivado de las constantes en la ecuación

Limitaciones

Una muestra con una actividad de γ -GT que exceda el límite de linealidad deberá diluirse con solución salina a 0.9% y volverse a analizar incorporando el factor de dilución en el cálculo del resultado.

VALORES ESPERADOS (3)

Mujeres: 4-25 U/L a 30°C 5-32 U/L a 37°C

Hombres: 7-40 U/L a 30°C 9-52 U/L a 37°C

Se sugieren estos valores como referencia. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios rangos normales para el área donde está localizado.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Estas características de rendimiento se obtuvieron en laboratorios de DCL con procedimientos automatizados.

Estudio de Recuperación

Se agregó γ -glutamilttransferasa a un grupo de sueros humanos para aumentar la concentración de γ -GT en 78 U/L y 156 U/L. La recuperación de la γ -GT agregada promedió 102.3%.

Rango Reportable (NCCLS EP6-P)

El rango reportable utilizando procedimientos automatizados dependerá de la proporción muestra/reactivo utilizada. El procedimiento automatizado descrito dio un rango reportable de 5-1000 U/L.

Estudios de Precisión (NCCLS EP5-T2)

Se recopilaron los datos de dos sueros control utilizando un solo lote de reactivo en 40 corridas llevadas a cabo durante 20 días.

Nivel U/L	DE Total	CV Total %	DE durante la corrida U/L	CV durante la corrida %
23	0.6	2.6	0.4	1.8
71	1.1	1.6	0.3	0.5

Exactitud

Se comparó el rendimiento de este método (y) con el de un método similar (x) en un analizador Hitachi. Las muestras de suero de 48 pacientes que oscilaron de 20 U/L a 236 U/L dieron un coeficiente de correlación de 0.9993. El análisis de regresión lineal dio la siguiente ecuación:

$$\text{Este método} = 1.03 (\text{método de referencia}) - 1.4 \text{ U/L.}$$

REFERENCIAS

1. Szewczuk, A. and Baranowski, T., Purification and Properties of (-glutamyl Transpeptidase from Beef Kidney, *Biochem. Z.* 338, 317-329 (1963).
2. Burtis, C.A., Ashwood, E.R. (Ed.), *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, W.B. Saunders Co., Toronto, (1994) pp 848-849.
3. Orłowski, M. and Meister, A., *Biochem.Bioph.Acta* 73:679 (1963).
4. Szasz, G., Reaction Rate Method for (-glutamyltransferase Activity in Serum, *Clin. Chem.* 22, 2051-2055 (1976).
5. Persijn, J.P. and Van der Slik, W., A New Method for the Determination of (-glutamyltransferase in Serum, *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 14, 421-427 (1976).
6. Shaw, L.M., Stromme, J.H. et.al., IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes, Part 4, IFCC Method for (-Glutamyltransferase, *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 21, 633 (1983).
7. Kaplan, Lawrence and Pesce, Amadeo J.(Ed) , *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation*, Mosby-Year Book Inc, St Louis Missouri, (1996) p 1072.

8. Szasz, G., Clin. Chem. 15: 124 (1976).
9. Young, D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Testing, 3rd Edition, 3183-3185, AACC Press, Washington DC, 1990.

IN32410-7
Febrero 9, 2004