



POINTE SCIENTIFIC γ - GLUTAMIL TRANSFERASA

GAMMA GLUTAMIL

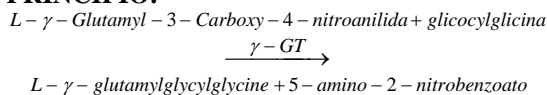
USO:

Para la determinación cuantitativa de GT y en suero.

HISTORIA DEL METODO:

Los métodos para la determinación de Y-GT están basados en el uso de los derivados del Glutamil Aminas Aromáticas como sustrato. Orłowski y Meiser presentaron el Y-Glutamil P-Nitroanilida como sustrato en 1963. En 1966 Kulhanek y Dimou (1966) agregan Gliciglicina y aumenta significativamente la velocidad de la reacción. En 1969 Szausz publicó un procedimiento cinético para la γ -GT en el cual está basado este procedimiento.

PRINCIPIO:



REACTIVOS:

Buffer γ -GT: 2-Amino-2Metil-1,3-propaneol 120mM Surfactante, Azida de Sodio como preservativo 0.01%.

Y-GT Reactivo: L-Y-Glutamyl-P-Nitroanilidia 4.2mM, Glicerina 100mM.

PRECAUCIONES:

Para uso "In Vitro" solamente
Y-GT Buffer contiene Azida de Sodio como preservativo, este puede reaccionar con el cobre o formar Azidas metálicas explosivas. Lave con agua abundante para prevenir.

PREPARACION DEL REACTIVO:

Reconstituya con Buffer la cantidad indicada en la etiqueta. El Buffer debe estar a temperatura ambiente para obtener mayores resultados.

ALMACENAMIENTO DEL REACTIVO:

Estable a 2-8°C por 21 días ya reconstituido.

DETERIORO DEL REACTIVO:

No use si:

1. Ha entrado humedad al vial.
2. El reactivo reconstituido tiene una absorción mayor a 405nm corrido contra agua.

COLECCION Y ALMACEN DE MUESTRA:

Utilice suero solamente. La actividad Y-GT se inhibe por la mayoría de los anticoagulantes.

El suero Y-GT es estable por siete días a 2-8°C y dos meses si se congela y se protege de la evaporación.

INTERFERENCIAS:

1. La mayoría de los anticoagulantes utilizados en los tubos de colecta sanguínea inhiben la actividad del Y-GT
2. Las drogas antiepilépticas (Phenitonia y Barbituricos) pueden elevar fácilmente los niveles de Y-GT
3. Para obtener una lista de sustancias de interferencias vea Young, et al.

MATERIALES PROVISTOS:

Reactivo γ -GT y Buffer γ -GT

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS:

1. Instrumentos de pipeteo.
2. Reloj.
3. Tubos de ensayo y gradilla.
4. Espectrofotómetro con capacidad para leer a 405 nm.
5. Block térmico.

PROCEDIMIENTO AUTOMATIZADO:

Vea las instrucciones específicas del Instrumento

PROCEDIMIENTO MANUAL:

1. Reconstituya el reactivo de acuerdo a las instrucciones.
2. Ponga en cero el espectrofotómetro con agua destilada a 405nm.
3. La temperatura de la cubeta debe ser 30°C.
4. Pipetee 1.0ml. de reactivo de trabajo en los tubos.
5. Agregue 0.05ml. (50ul) de control o suero de paciente al reactivo, mezcle y póngalos en la cubeta térmica.
6. Espere 30 segundos y lea u anote la absorbancia cada 30 segundos por 2 minutos (4 lecturas).
7. Calcule la absorbancia por minutos (Δ ABS/min)
8. Repita el procedimiento para cada muestra.

NOTAS DEL PROCESO:

Las muestras con valores sobre IU/L se deben diluir 1:1 con solución 0.9% salina, corra de nuevo, y el resultado multiplíquelo por dos.

CALIBRACION:

Punto final: La estandarización se logra con un standard de P-Nitroanilina equivalente a 50IU/L para uso manual únicamente.

Cinética: El procedimiento se calibra con la absorción molar de la P-Nitroanilina tomada como 9.90×10^3 a 405 nm bajo condiciones específicas. Los resultados se basan en el cambio de absorción por minuto. Todos los parámetros deben de ser conocidos y controlados.

CONTROL DE CALIDAD:

El uso de suero control normal y anormal rutinariamente es necesario para el monitoreo de la reacción.

CALCULOS:

A 30°C una cantidad intencional IU/L se define como la cantidad de enzima que cataliza la transformación de un micromol de sustrato por minuto bajo condiciones definidas.

$\Delta \text{ABS}/\text{MIN}$ = Cambio de absorbancia por minuto.

TRV = Volumen total de reactivo (1.05ml)

1000 = Conversión de ml a L.

9.9×10^3 = Absorción molar de P-Nitroanilina a 405nm.

SV = Volumen de la muestra

LP = Trayecto de la luz (1 cm.)

$$\frac{\Delta A / \text{min.} \times \text{TRV} \times 1000}{9.5 \times \text{SV} \times \text{LP}} = \text{IU} / \text{L}$$

Cuando: $\Delta A/\text{min.} \times 2211 = \text{IU/L}$ (Cant. incognita)

Ejemplo:

Si $\Delta A/\text{min.} = .06$, cuando $.06 \times 2211 = 133 \text{IU/L}$

NOTA:

Si alguno de estos parámetros cambia, se puede calcular con otro factor con la fórmula.

LIMITANTES:

Este proceso esta diseñado para medir Y-GT en suero sin importar su fuente.

VALORES ESPERADOS:

Varón: 8-77 IU/L a 30°C

9-54 IU/L a 37°C

Hembra: 6-24 IU/L a 30°C

8-35 IU/L a 37°C

Se sugiere que cada laboratorio establezca su rango normal.

DESEMPEÑO:

1. Linearidad: 600 IU/L
2. Comparación: Se realizaron estudios entre éste método y otro similar dando una correlación de 0.999 y una ecuación de regresión $y=1.04-2.7$
3. Precisión:

Entre Pruebas		
Conc.	D.E.	C.V.%
2.3	0.7	3.0
108	1.5	1.4

Prueba a Prueba		
Conc.	D.E.	C.V.%
2.3	0.8	3.5
109	2.0	1.8

REFERENCIAS:

1. DEMETRIOU.J.A., Derwes, P.A., Gun, J.B., Clinical Chemistry: Principles and Technics. 2nd. Ed. Hagerstown, Harper Row, pp. 872-873 (1974).
2. Orłowski, M., Meiser, A., Biochem, Biophys. Acta 73:679 (1963)
3. Kulhanek, V., Dimov, D.M., Clin. Chem. Acta 14:619 (1966).
4. Szasz, G., Clin. Chem 15:124 (1969)
5. Rosalki, S.B., Advances in clinical Chemistry Vol. 17, New York, Academic press, p. 53 (1975)
6. Wolf P.L., et al, Practical Clinical Enzimology and Biochemical Profiling. New York p.37 (1973)
7. Whitfield, J.B., et al, Gut 13:702 (1972)
8. Young, D.S., et al Clin Chem. 21:10 (1975).
9. Tritz, N.W. Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders Co.p. 1213 (1982). REV. 2/91

	DISTRIBUIDOR: MYM Laboratory & Medical Supply, Inc. 8684 Ave. de la Fuente Ste. 14 San Diego CA. 92154 Tel. (619) 710-0126 Fax. (619) 710-0297 www.mymSupply.com email: mail@mymSupply.com
--	---