

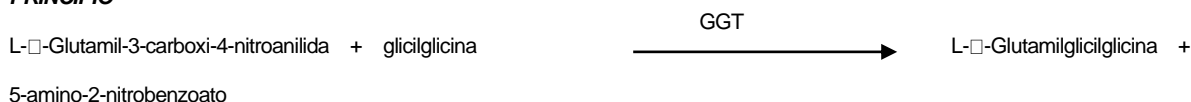
IMPORTANCIA CLINICA

La determinación de GGT es usada en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades hepáticas, tales como: cirrosis alcohólica, y tumores primarios y secundarios. En casos de ictericia obstructiva y neoplasmas metastáticos, aparecen niveles alterados de GGT más prematuramente y más pronunciados que los valores de las demás enzimas hepáticas.

RESUMEN

Los métodos para determinar GGT están basados en el uso de glutamil derivados de aminas aromáticas como sustrato. En 1963 Orlowsky y Meiser introdujeron la □-Glutamil-□-nitroanilida como sustrato con Kulhanek y Dimov (1966) añadieron glicilglicina e incrementaron significativamente la velocidad de la reacción. En 1969, Szasz publicó un procedimiento cinético para GGT en el cual se basa nuestro procedimiento. Más tarde, Szasz y Persjin reportaron que el 3-carboxil derivativo, L-□-glutamil -3-carboxi-4-nitroanilida (GLUPAC) podría ser sustituido por la L-□-Glutamil-□-nitroanilida produciendo un reactivo más estable.

PRINCIPIO



La GGT en la muestra cataliza la transferencia del grupo glutamil a glicilglicina por medio de la GLUPAC , de acuerdo a la reacción. La cantidad de 5-amino-2-nitrobenzoato formado es proporcional a la actividad de GGT y puede ser medida a 405 nm.

REACTIVOS

Después de combinar R1 y R2 el reactivo contiene:

| | |
|----------------------|------------|
| Tris Buffer (pH 8.2) | 100 mmol/L |
| Glicilglicina | 100mmol/L |
| GLUPAC | 4 mmol/L |
| Azida de Sodio | 0.1 % |

Para preparar reactivo de trabajo se mezclan 5 partes de reactivo 1 y una parte de reactivo 2.
Los reactivos por separado son estables hasta su fecha de caducidad si se guardan a 2-8°C.
El reactivo de trabajo es estable hasta 21 días a 2-8°C.

INTERFERENCIAS

Muchos anticoagulantes usados en los tubos para recolección de sangre inhiben la actividad de la GGT.
Drogas anti-epilépticas (fenitoína) pueden elevar falsamente el nivel de GGT.
Se ha encontrado que bilirrubinas de por lo menos 20 mg/dL o hemoglobinas de por lo menos 100-500 mg/dL tienen un efecto insignificante en esta prueba.

MATERIAL

Reactivos R1 Y R2 de GGT
Pipetas automatizadas
Cronómetro
Tubos de ensayo
Espectrofotómetro con capacidad de leer a 405 nm (400-420)
Bloque térmico
Sueros control para GGT

PROCEDIMIENTO (AUTOMATIZADO GENERAL)

| | |
|--------------------------|-------------|
| Longitud de onda | 405 nm |
| Tipo de ensayo | cinético |
| Razón muestra/ reactivo | 1:11 |
| Dirección de la reacción | creciente |
| Temperatura | 37°C |
| Tiempo lag | 60 segundos |
| Tiempo de lectura | 60 segundos |
| Valor normal bajo | 8 U/L |
| Valor normal alto | 54 U/L |

PROCEDIMIENTO (MANUAL)

1. Prepare el reactivo de acuerdo al instructivo
2. Pipetee 1 mL de reactivo de trabajo en cada tubo previamente identificados: control, paciente, etc.
3. Pre-caliente por lo menos 5 minutos a 37 °C.
4. Ajuste el espectrofotómetro a 0 con agua a 405 nm.
5. Agregue 100 μ L de suero a los tubos respectivos y mezcle. Incube.
6. Espere 60 segundos y tome las lecturas.
7. Vuelva a hacer lecturas a los 60 y 120 segundos.
8. Calcule la diferencia de absorbancias absorbancia / minuto (Δ Abs/min).
9. Esta diferencia se multiplica por el factor 1158 y así se obtiene el resultado en U/L.
10. Repita el procedimiento para cada muestra.

CALIBRACIÓN

El procedimiento está estandarizado por la media de la absorptividad de 5-amino-2-nitrobenzoato tomada como 9.5 a 405 nm bajo las condiciones de prueba descritas. Los resultados están basados en el cambio de absorbancia por minuto. Todos los parámetros deben ser conocidos y controlados.

LIMITACIONES

Muestras con valor arriba de 800 U/L deben ser diluidas 1:1 con solución salina, reensayadas, y el resultado se multiplica por 2.

CALCULOS

GGT está determinada en U/L. Una unidad internacional (U/L) está definida como la cantidad de enzima que cataliza la transformación de un micromol de sustrato por minuto bajo condiciones específicas.

$$\text{GGT (U/L)} = \frac{\Delta \text{ Abs/min} * \text{TV} * 1000}{\text{MMA} * \text{SV} * \text{LP}} = \text{U/L GGT in sample}$$

donde :

- Δ Abs/min = cambio de absorbancia por minuto
- 1000 = conversión UI/mL a U/L
- TV = volumen total de reacción (mL)
- MMA= absorptividad molar de NADH
- SV = volumen de muestra (mL)
- LP = paso de luz en cm

CONTROL DE CALIDAD

Se debe correr rutinariamente sueros control normal y anormal con concentraciones conocidas para monitorear la validez de la reacción. Estos controles se deben correr por lo menos cada vez que se vayan a procesar determinaciones de GGT. Se recomienda que cada laboratorio tenga su propia frecuencia de determinación de control.

VALORES ESPERADOS

Hombres: 8-37 U/L (30°C) 9-54 U/L (37 °C)

Mujeres: 6-24 U/L (30 °C) 8-35 U/L (37°C)

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

LINEARIDAD

0-800 U/L

FABRICADO POR:

POINTE SCIENTIFIC, INC.
E.E.U.U.