

REF 10219-4 4 x 29 ml / 7 ml

GAMMA-GLUTAMYL TRANSFÉRASE (GGT)

Chaque cartouche contient un volume utilisable de 29 ml de réactif R1 et 7 ml de réactif R2.

UTILISATION PRÉVUE

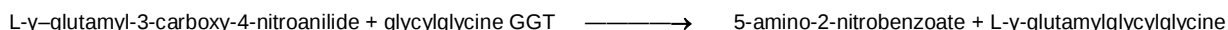
Le réactif GGT EasyRA sert à déterminer les quantités de Gamma-glutamyl transférase dans le sérum et le plasma humains (avec de l'héparine de lithium comme anticoagulant), grâce à « l'analyseur de chimie clinique Medica EasyRA® ». Pour diagnostic *in vitro* uniquement. Réservé à un usage professionnel.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

La gamma-glutamyl transférase catalyse le transfert d'un groupe gamma-glutamyl entre un peptide gamma-glutamyl et un acide aminé d'un autre peptide. L'enzyme a pour la première fois été identifiée et purifiée par Szewczuk et Baromouski.¹ L'activité sérique de la gamma-glutamyl transférase est utilisée dans le diagnostic de maladies hépatiques telles que la cirrhose alcoolique et les tumeurs du foie, primitives et secondaires.² Les premières méthodes de dosage de la GGT utilisaient un substrat peu soluble, le L-γ-glutamyl-P-nitroanilide.^{3, 4} Persijn et Van der Slik⁵ ont ensuite modifié la méthode et utilisé un substrat plus soluble et stable, le L-γ-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide. La Fédération internationale de chimie clinique (IFCC) a ensuite modifié cette méthode de dosage de la GGT dans le sérum.⁶

PRINCIPE DE LA PROCÉDURE

Le substrat L-γ-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide (R2) transfère son groupe glutamyl sur la glycylglycine (R1) en présence de GGT, pour former 5-amino-2-nitrobenzoate + L-γ-glutamylglycylglycine.



La quantité de 5-amino-2-nitrobenzoate est mesurée par une méthode spectrophotométrique à 405 nm. Le taux de formation de ce composant est directement proportionnel à l'activité de la gamma-glutamyl transférase de l'échantillon.

RÉACTIFS

Réactif R1 (tampon réagissant à la GGT) :

L-glycylglycine 100 mmol/l
Tampon pH 8,3 (à 25 °C) et un conservateur.

Réactif R2 (substrat réagissant à la GGT) :

L-γ-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide 4 mmol/l

PRÉCAUTIONS

1. Les bonnes pratiques de sécurité en laboratoire doivent être respectées lors de la manipulation des réactifs de laboratoire. (CLSI, GP17-A2).
2. Les réactifs contiennent moins de 0,1 % d'azoture de sodium. Néanmoins, cette substance peut réagir violemment au contact du plomb et du cuivre contenus dans le système de plomberie, et former des azides métalliques explosifs. Consulter la fiche de données de sécurité pour obtenir des informations sur les risques, les dangers et la sécurité.

3. Comme pour toute procédure de test diagnostique, l'interprétation des résultats doit tenir compte des résultats de tous les autres tests ainsi que de l'état clinique du patient.
4. Ne pas utiliser de cuvettes abîmées.

INSTRUCTIONS CONCERNANT LA MANIPULATION, LE STOCKAGE ET LA STABILITÉ DU RÉACTIF

Le réactif est fourni prêt à l'emploi. Le réactif non ouvert est stable jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette, à condition d'être stocké entre 2 et 8 °C. Le réactif ouvert, conservé à bord de l'analyseur EasyRA dans le compartiment réfrigéré du réactif, est stable pendant le nombre de jours programmés dans la puce RFID sur la cartouche de réactif. Ne pas utiliser le réactif s'il est trouble ou nuageux, ou s'il ne parvient pas à retrouver les valeurs de contrôle sérique connues.

PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS, STOCKAGE/STABILITÉ

Utiliser du sérum clair non hémolysé. Des tubes enduits d'héparine de lithium peuvent être utilisés pour le prélèvement du plasma. Les échantillons de sérum et de plasma ne contenant pas de conservateur doivent être séparés du sang coagulé dès que possible. La GGT sérique et plasmatique est stable pendant 2 jours entre 18 et 25 °C, 1 semaine entre 2 et 8 °C et 1 mois à -25 °C.⁷

PROCÉDURE

Matériel fourni

Cartouche de réactif Medica GGT, REF 10219-4

Matériel auxiliaire nécessaire

Medica EasyQC®, Niveau A – Chimie/Électrolytes, REF 10793

Medica EasyQC, Niveau B – Chimie/Électrolytes, REF 10794

Cartouche de colorant pour test de précision Medica, REF 10764

Cartouche de nettoyant Medica – Chimie et électrodes sélectives, REF 10660 *ou*

Cartouche de nettoyant Medica – Chimie, REF 10661

Mode d'emploi

Le réactif est fourni prêt à l'emploi. Retirer le bouchon et placer le réactif dans le plateau de l'analyseur EasyRA, situé dans le compartiment approprié de la cartouche. La stabilité du réactif à bord (60 jours maximum) est programmée dans la puce RFID sur la cartouche de réactif.

Remarque : vérifier l'absence de mousse au niveau des collets de la cartouche après avoir retiré les bouchons et placé la cartouche sur l'analyseur EasyRA. S'il y a de la mousse, procéder à son élimination à l'aide d'un écouvillon ou d'une pipette jetable avant d'effectuer le test. Utiliser des écouvillons ou pipettes jetables différents pour R1 et R2.

Étalonnage

Non applicable.

Contrôle de qualité

Il est recommandé d'inclure deux niveaux de contrôle (normal et anormal) à base de sérum humain quotidiennement lors des tests patient et à chaque changement de numéro de lot de réactifs. Si les résultats du matériel de contrôle du dosage ne correspondent pas à l'intervalle de valeurs attendues, cela peut indiquer la présence d'une dégradation du réactif, d'un mauvais fonctionnement de l'instrument ou d'erreurs survenues au cours de la procédure. Le laboratoire doit respecter les réglementations locales, d'état et fédérales en matière de contrôle de qualité, lorsqu'il en utilise le matériel.

Résultats

Une fois le dosage terminé, l'analyseur EasyRA calcule la concentration en gamma-glutamyl transférase à partir des modifications de l'absorbance par minute, du volume de l'échantillon, du volume réactionnel total, de la longueur de cheminement (cm) de 0,6 et de l'absorptivité molaire de 9,5.

$$\text{GGT (U/l)} = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{Volume total}(\mu\text{l}) \times 1000)}{(\text{Absorptivité molaire} \times \text{Longueur de cheminement}(\text{cm}) \times \text{Volume de l'échantillon}(\mu\text{l}))}$$

L'activité de la gamma-glutamyl transférase, mesurée en unité par litre (U/l), représente l'activité enzymatique responsable de la formation de 1 $\mu\text{mol/l}$ de NADH par minute.

Valeurs attendues⁴

L'intervalle des valeurs de référence pour la gamma-glutamyl transférase dans le sérum est le suivant :

Homme adulte : de 9 à 52 U/l (37 °C)

Femme adulte : de 5 à 32 U/l (37 °C)

Ces valeurs sont fournies à titre indicatif. Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir son propre intervalle de valeurs attendues, compte tenu des différences qui existent entre les instruments, les laboratoires et les populations locales.

Limites de la procédure (si les valeurs de l'échantillon sont au-dessus de la limite supérieure de l'intervalle, par exemple)

Si les modifications de l'absorbance par minute ($\Delta A/\text{Min}$) sont supérieures à 0,1357, ce qui correspond à environ 1000 U/l, l'analyseur le signal par les lettres « SD » (déplétion du substrat). Si l'icône de « répétition » est sélectionnée par l'opérateur, l'échantillon peut être à nouveau testé avec la moitié (1/2) de son volume. Le calcul des résultats issus de la répétition du test prend en compte la diminution de la taille de l'échantillon. Cela aura pour conséquence d'allonger l'intervalle rapporté du dosage de la gamma-glutamyl transférase jusqu'à 2000 U/l.

CARACTÉRISTIQUES DES PERFORMANCES⁸

Intervalle rapporté

L'intervalle rapporté est compris entre 7 et 1000 U/l. Il est compris entre 7 et 2000 U/l lorsque la moitié de l'échantillon est utilisée (dilution à 1:1).

Inexactitude/corrélation (CLSI, EP9-A2)

Le tableau suivant regroupe les données obtenues lors d'une comparaison de la performance entre le réactif GGT Medica (y) sur l'analyseur EasyRA utilisant uniquement une longueur d'onde primaire de 405 nm et le même réactif GGT (x) sur l'analyseur EasyRA utilisant une longueur d'onde principale de 405 nm et une longueur d'onde secondaire de 700 nm. Les données fournies ci-dessous correspondent à des dosages uniques obtenus utilisant une longueur d'onde primaire et une longueur d'onde secondaire sur l'analyseur EasyRA par rapport à la moyenne des valeurs d'échantillons déterminés en double utilisant uniquement une longueur d'onde principale l'analyseur chimique EasyRA.

Nombre d'échantillons	47	Intervalle d'échantillons	10 à 903 U/l
Courbe	1,0213	Intersection avec l'axe des Y	-0,9888
Coefficient de corrélation	0,9999	Équation de régression	$Y = 1,0213 \cdot X - 0,9888$

Le tableau suivant regroupe les données obtenues en comparant des échantillons équivalents de sérum (x) et de plasma avec héparine de lithium (y) à l'aide du réactif GGT Medica sur l'analyseur EasyRA. Les données ci-dessous comparent un dosage unique du plasma versus la moyenne des valeurs d'échantillons de sérum déterminées en double.

Nombre d'échantillons	80	Intervalle d'échantillons	de 10 à 1057 U/l
Courbe	1,0319	Intersection avec l'axe des Y	-3,8998
Corrélation	0,9997	Équation de régression	$Y = 1,0319 \cdot X - 3,8998$

Imprécision (CLSI, EP5-A2)

Des mesures doubles de chacun des trois niveaux du matériel de contrôle de qualité ont été testées deux fois par jour pendant 20 jours. La précision intra-série et la précision totale ont été déterminées à partir de ces données.

Imprécision intra-série :

Taux	DS intra-série	CV intra-série
U/l	U/l	%
88	1,0	1,2
61	1,0	1,7
34	0,9	2,5

Imprécision totale :

Taux	Imprécision totale DS	Imprécision totale CV
U/l	U/l	%
88	1,9	2,1
61	1,5	2,4
34	1,0	3,0

Linéarité (CLSI, EP6-A)

Linéarité comprise entre 7 et 1000 U/l, en fonction de l'équation de régression linéaire $Y = 1,0126 \cdot X + 0,6421$.

Limite du blanc (LdB) : 4,00 U/L (CLSI, EP17-A)

Limite de détection (LD) : 5,29 U/L (CLSI, EP17-A)

Limite de quantification (LQ) : 6,6 U/L (CLSI, EP17-A)

Substances interférentes (CLSI, EP7-A)

Une interférence inférieure à 10 % est désignée par « aucune d'interférence significative ».

L'hémoglobine interfère, même à des concentrations minimales. Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés.

Aucune interférence significative n'a été observée pour un taux de bilirubine total allant jusqu'à 35 mg/dl.

Aucune interférence significative n'a été observée pour un taux de bilirubine direct allant jusqu'à 20 mg/dl.

Aucune interférence significative n'a été observée pour un taux de triglycérides allant jusqu'à 667 mg/dl (à l'aide du produit Intralipid*).

*Intralipid est une marque déposée de Pharmacia AB à Clayton, Caroline du Nord.

Young fournit une liste de médicaments et autres substances qui interfèrent avec les tests cliniques chimiques.^{9, 10}

RÉFÉRENCES

1. Szewczuk, A. and Baranowski, T. Purification and Properties of γ -glutamyl Transpeptidase from Beef Kidney, *Biochem. Z.* 338, 317-329 (1963).
2. Burtis, C.A., Ashwood, E.R. (Eds.), *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, W.B Saunders, Toronto, (1994) pp 848-849.
3. Orłowski M, Meister A. *Biochem Biophys Acta* 1963; 73:679.
4. Szasz, G., Reaction Rate Method for γ -glutamyltransferase Activity in Serum, *Clin. Chem.* 1976 ; 22: 2051-2055.
5. Persijn, J.P. and Van der Slik, W., A New Method for the Determination of γ -glutamyltransferase in serum, *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1976 ; 14: 421-427.

6. Shaw, L.M., Stromme, J.H. et al., IFCC Method for γ -glutamyltransferase, *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1983; 21: 633.
7. Kaplan, Lawrence and Pesce, Amadeo J. (Ed), *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation*, Mosby-Year Book Inc, St Louis Missouri, (1996) p 1072.
8. Documentation de Medica.
9. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995.
10. Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC. AACC Press; 1997.

Paramètres du dosage (GGT) EasyRA

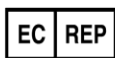
Longueur d'onde principale (nm)	405
Longueur d'onde secondaire (nm)	700
Mode réactionnel	Enzyme (0)
Sens réactionnel	Croissant
Blanc du réactif	Non
Blanc de l'échantillon	Non
Modif. max du premier intervalle de l'absorbance	0,054
Durée de la réaction	7,2 min
Intervalle d'étalonnage (maximum)	N/A
Stabilité du réactif à bord	60 jours

Sérum / Plasma

Volume de l'échantillon (?l)	5,0
Volume du diluant (?l)	40
Volume du réactif R1 (?l)	132
Volume du réactif R2 (?l)	33
Emplacements décimaux (valeurs par défaut)	0
Unités (valeurs par défaut)	U/l
Facteur de dilution	1:1 (pour augmenter l'intervalle de dosage)
Linéarité	7 jusqu'à 1000 U/l
Absorptivité molaire	9,50



Medica Corporation, 5 Oak Park Drive
Bedford, MA 01730-1413 USA



Emergo Europe, Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague, The Netherlands