

REF 10219-4 4 x 29 ml/7 ml

GAMMA GLUTAMIL TRANSFERASI (GGT)

Flaconi ciascuno contenente 29 ml di reagente R1 e 7 ml di reagente R2.

USO PREVISTO

Il reagente della GGT EasyRA è indicato nella misurazione quantitativa dell'attività della gamma glutamil transferasi nel siero e plasma umani (con litio eparina come anticoagulante), utilizzando l'analizzatore chimico clinico MEDICA EasyRA®. Solo per uso diagnostico *in vitro*. Solo per uso professionale.

RIEPILOGO E SPIEGAZIONE

La gamma glutamil transferasi catalizza il trasferimento del gruppo γ -glutamil da un γ -glutamil peptide ad un amminoacido di un altro peptide. L'enzima è stato caratterizzato e purificato per la prima volta da Szewczuk e Baromouski¹. L'attività della gamma glutamil transferasi nel sangue viene usata per diagnosticare patologie epatiche quali cirrosi epatica alcolica e tumori epatici primari e secondari². I primi dosaggi di γ -GGT nel sangue implicavano l'uso di un substrato L- γ -glutami-P-nitroanilide relativamente insolubile^{3, 4}. Persijn e Van der Slik⁵ hanno modificato il metodo attraverso l'uso di un substrato più solubile e stabile – il L- γ -glutamil-3-carbossi-4-nitroanilide. La IFCC (International Federation of Clinical Chemistry) ha ulteriormente modificato tale procedura per la misurazione della gamma glutamil transferasi nel siero⁶.

PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

Il substrato L- γ -glutamil-3-carbossi-4-nitroanilide (R2) trasferisce il proprio gruppo glutammile alla glicilglicina (R1) in presenza di gamma glutamil transferasi, formando 5-ammino-2-nitrobenzoato + L- γ -glutamilglicilglicina.



Il prodotto 5-ammino-2-nitrobenzoato si misura spettrofotometricamente a 405 nm. La velocità di formazione di tale componente è direttamente proporzionale alla quantità di gamma glutamil transferasi nel campione.

REAGENTI

Reagente tampone per gamma glutamil transferasi (R1):

L-glicilglicina 100 mmol/l
Tampone a pH 8,3 (a 25° C) e conservante.

Reagente substrato per gamma glutamil transferasi (R2):

L- γ -glutamil-3-carbossi-4-nitroanilide 4 mmol/l

PRECAUZIONI

1. Seguire sempre buone prassi di sicurezza di laboratorio quando si maneggiano reagenti di laboratorio. (CLSI, GP17-A2).
2. I reagenti contengono meno dello 0,1% di azoturo di sodio, che potrebbe reagire con le tubature in rame e piombo formando accumuli altamente esplosivi di azidi metallici. Per informazioni su rischi, pericoli e sicurezza fare riferimento alle schede di sicurezza (SDS).
3. Come per qualunque altra procedura di test diagnostico, i risultati devono essere interpretati alla luce dei risultati prodotti da altri test e dello stato clinico del paziente.
4. Non utilizzare cuvette lavate.

ISTRUZIONI PER LA MANIPOLAZIONE, LA CONSERVAZIONE E LA STABILITÀ DEL REAGENTE

Il reagente viene fornito pronto all'uso. Il reagente in confezione chiusa si mantiene stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta se conservato ad una temperatura di 2 - 8° C. Il reagente rimane stabile on-board nel vano reagenti refrigerato nell'analizzatore EasyRA per il numero di giorni programmati sul chip RFID del flacone del reagente. Non usare il reagente qualora questo si presenti torbido od opaco o nel caso in cui non riesca a recuperare i valori noti di controllo del siero.

PRELIEVO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI/STABILITÀ

È necessario usare siero e plasma non emolizzato in misura considerevole. Per il prelievo del plasma è possibile utilizzare provette rivestite di litio eparina. I campioni di siero e plasma privi di conservanti devono essere separati il prima possibile da cellule e coaguli. La gamma glutamil transferasi serica e plasmatica è stabile per 2 giorni a 18 - 25° C, per 1 settimana a 2 - 8° C e per 1 mese a -25° C.⁷

PROCEDURA

Materiale fornito

Flacone di reagente per gamma glutamil transferasi Medica, REF 10219-4

Ulteriore materiale necessario

Medica EasyQC® Chimica/Elettroliti – Livello A, REF 10793

Medica EasyQC Chimica/Elettroliti – Livello B, REF 10794

Flacone per analisi colorimetrica di precisione Medica, REF 10764

Flacone di detergente Medica – Chimica e ISE, REF 10660, oppure

Flacone di detergente – Chimica, REF 10661

Istruzioni per l'uso

Il reagente viene fornito pronto all'uso. Rimuovere il tappo e collocare il reagente nel piatto reagenti dell'analizzatore EasyRA situato nell'area reagenti. La stabilità on-board (60 giorni massimo) è programmata sul chip RFID del flacone del reagente.

Nota: verificare che non sia presente schiuma all'interno del collo del flacone dopo aver rimosso il tappo e aver collocato il flacone sull'analizzatore EasyRA. Qualora fosse presente schiuma, rimuoverla con un tampone o una pipetta monouso prima di eseguire il test. Usare pipette monouso o tamponi diversi per i reagenti R1 e R2.

Calibrazione

Non applicabile.

Controllo qualità

Si consiglia di eseguire due livelli di controllo del siero umano (normale e anomalo) con l'analisi almeno una volta al giorno, quando si eseguono test sui pazienti e ogni qual volta il lotto di reagenti cambia. Il mancato raggiungimento dell'intervallo corretto di valori nel test del materiale di controllo può essere indice di deterioramento del reagente, malfunzionamento dello strumento o errori procedurali. Quando viene utilizzato il materiale di controllo qualità, il laboratorio deve attenersi alla normativa locale, nazionale e federale in materia di controllo di qualità.

Risultati

Dopo aver completato l'analisi, l'analizzatore EasyRA calcola la concentrazione di gamma glutamil transferasi dal cambiamento di assorbanza al minuto, dal volume del campione, dal volume di reazione totale, dalla lunghezza di 0,6 cm del cammino ottico e dalla assorbività molare di 9,5.

$$\text{GGT (U/L)} = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{volume totale } (\mu\text{L}) \times 1000)}{(\text{assorbività molare} \times \text{cammino ottico (cm)} \times \text{volume campione } (\mu\text{L}))}$$

Un'unità/litro (U/L) di attività della gamma glutamil transferasi è la quantità di enzima che produce una $\mu\text{mol/l}$ di NADH al minuto.

Valori Attesi⁷

L'intervallo di riferimento per la gamma glutamil transferasi nel siero e nel plasma è il seguente:

Maschio adulto: 9 - 52 U/L (a 37° C)

Femmina adulta: 5 - 32 U/L (a 37° C)

Tali valori rappresentano delle linee guida. Si consiglia a ciascun laboratorio di stabilire il proprio intervallo di valori attesi, in quanto esistono differenze tra strumenti, laboratori e popolazioni locali.

Limiti procedurali (ad es. se il campione è al di sopra dell'intervallo di misura)

Se il cambiamento di assorbanza al minuto ($\Delta A/\text{min}$) è superiore a 0,1357, corrispondente all'incirca a 1000 U/L, l'analizzatore lo contrassegna con "SD" (deplezione substrato). Se l'icona di "Riesecuzione" viene selezionata, è possibile che il campione venga ritestato utilizzando la metà (1/2) del volume del campione. I risultati del test rieseguito vengono calcolati tenendo conto dell'uso di volumi inferiori del campione. In tal modo l'intervallo accettabile del test della gamma glutamil transferasi viene esteso a 2.000 U/L.

CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE⁸

Intervallo accettabile

L'intervallo accettabile è compreso tra 7 e 1.000 U/L. L'intervallo esteso è compreso tra 7 e 2.000 U/L quando viene usata la metà del campione (fattore di diluizione 1:1).

Imprecisione/Correlazione (CLSI, EP9-A2)

La tabella seguente elenca i dati ottenuti in un confronto tra le prestazioni del reagente per GGT Medica (y) su un analizzatore EasyRA che utilizzi solo la lunghezza d'onda principale di 405 nm e quelle dello stesso reagente per GGT (x) sull'analizzatore EasyRA che utilizzi una lunghezza d'onda principale di 405 nm e una lunghezza d'onda secondaria di 700 nm. I dati di seguito illustrati rappresentano le singole determinazioni ottenute che utilizzi la lunghezza d'onda principale e una lunghezza d'onda secondaria sull'analizzatore EasyRA a fronte della media di due valori ripetuti ottenuti che utilizzi solo una lunghezza d'onda principale sull'analizzatore EasyRA.

Numero di campioni	47	Intervallo dei campioni	da 10 a 903 U/L
Pendenza	1.0213	Intercetta y	-0,9888
Coefficiente di correlazione	0,9999	Equazione di regressione	$Y = 1.0213 \cdot X - 0,9888$

La tabella seguente elenca i dati ottenuti in un confronto di campioni abbinati di siero (x) e di plasma trattato con litio eparina (y) utilizzando il reagente Medica per GGT sull'analizzatore EasyRA. I dati di seguito presentati illustrano le singole determinazioni a fronte della media di due valori ripetuti relativi al siero.

Numero di campioni	80	Intervallo di campioni	da 10 a 1.057 U/L
Pendenza	1,0319	Intercetta y	-3,8998
Coefficiente di correlaz.	0,9997	Equazione di regressione	$Y = 1,0319 \cdot X - 3,8998$

Imprecisione (CLSI, EP5-A2)

Le misurazioni duplicate di ciascuno dei tre livelli di materiale sono state analizzate due volte al giorno per 20 giorni. Da questi dati sono state determinate sia la precisione intra-serie che quella totale.

Imprecisione intra-serie:

Livello U/L	SD intra-serie U/L	CV intra-serie %
88	1,0	0,1,2
61	1,0	1,7
34	0,9	2,5

Imprecisione totale:

Livello U/L	SD imprecisione totale U/L	CV imprecisione totale %
88	1,9	2,1
61	1,5	2,4
34	1,0	3,0

Linearità (CLSI, EP6-A)

Lineare da 7 a 1.000 U/L, basata sull'equazione di regressione lineare $Y = 1,0126 \cdot X + 0,6421$.

Limite di bianco (LOB):	4,0 U/L	(CLSI, EP17-A)
Limite di rilevamento (LOD):	5,3 U/L	(CLSI, EP17-A)
Limite di quantificazione (LOQ):	6,6 U/L	(CLSI, EP17-A)

Sostanze interferenti (CLSI, EP7-A)

Le interferenze inferiori al 10% sono state classificate come "non significative".

L'emoglobina interferisce anche a concentrazioni minime. Non utilizzare campioni emolizzati.

In livelli fino a 35 mg/dl di bilirubina totale non sono state riscontrate interferenze significative.

In livelli fino a 20 mg/dl di bilirubina diretta non sono state riscontrate interferenze significative.

In livelli fino a 667 mg/dl di trigliceridi non sono state riscontrate interferenze significative (usando Intralipid*).

**Intralipid è un marchio registrato di Pharmacia AB, Clayton, NC.*

Young fornisce un elenco di medicinali e altre sostanze che interferiscono con le analisi chimiche cliniche^{9, 10}

RIFERIMENTI

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. Dati in archivio presso 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.

PARAMETRI DELL'ANALISI EASYRA (GGT)

Lunghezza d'onda principale (nm)	405
Lunghezza d'onda secondaria (nm)	700
Tipo di reazione	Enzima (0)
Direzione di reazione	Aumento
Bianco reagente	No
Bianco campione	No
Primo interv. max. camb. assorbanza	0,054
Tempo di reazione	7,2 min
Intervallo di calibrazione (massimo)	N/D
Stabilità on-board del reagente	60 giorni

Siero/Plasma

Volume del campione (μ l)	5,0
Volume del diluente (μ l)	40
Volume reagente R1 (μ l)	132
Volume reagente R2 (μ l)	33
Posizioni decimali (valori predefiniti)	0
Unità (valori predefiniti)	U/L
Fattore di diluizione	1:1 (per estendere l'intervallo di misurazione)
Linearità	da 7 a 1.000 U/L
Assorbività molare	9,50