

Uso previsto

Determinazione cinetica quantitativa dell'attività della gamma-glutamyl transferasi (GGT) nel siero, utilizzando gli analizzatori Yumizen C230 e Yumizen C240.

Solo su prescrizione.

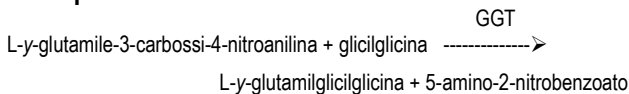
Interesse clinico

La misurazione della GGT viene utilizzata nella diagnosi e nel trattamento di malattie epatiche come la cirrosi alcolica e tumori primari e secondari. Nei casi di ittero ostruttivo e di neoplasie metastatiche, l'aumento dei livelli di GGT è più precoce ed evidente rispetto a quello di altri enzimi epatici.¹

Procedura di analisi

I metodi per la determinazione della GGT si basano sull'uso come substrato di derivati glutammilici di ammine aromatiche.² Orłowski e Meiser introdussero, l'utilizzo della γ -glutamyl-p-nitroanilina come substrato nel 19633, mentre Kulhanek e Dimov (1966) aggiunsero la glicilglicina, aumentando significativamente la velocità della reazione.⁴ Nel 1969, Szasz pubblicò una procedura cinetica per la GGT⁵ sul cui principio si basa la presente procedura. Successivamente, Szasz and Persijn⁶ riferirono che il derivato 3-carbossilico, L- γ -glutamile-3-carbossi-4-nitroanilina (GLUPA-C), poteva essere sostituito alla L- γ -glutamyl-p-nitroanilina, per ottenere un reagente più stabile. Il reagente liquido per GGT di Pointe utilizza questo derivato 3-carbossilico solubile.

Principio



La GGT nel campione catalizza il trasferimento del gruppo glutammilico dal GLUPA-C alla glicilglicina secondo la reazione sopra descritta. La quantità di 5-amino-2-nitrobenzoato formato è proporzionale all'attività della GGT e può essere misurata cineticamente a 405 nm.

Composizione dei reagenti

Oltre a uno stabilizzatore, il reagente combinato R1 e R2 contiene:

Tampone Tris	< 89 mmol/L
Glicilglicina	< 126 mmol/L
GLUPA-C	4,0 mmol/L
Sodio azide	0,095%

Preparazione dei reagenti

I reagenti vengono forniti sotto forma di liquido pronto all'uso.

Conservazione e stabilità dei reagenti

Conservare i reagenti a 2-8°C. Se conservati seguendo le raccomandazioni, i reagenti sono stabili fino alla data di scadenza.

NOTA: Il reagente R2 è termosensibile e può subire alterazioni in caso di esposizione prolungata a temperatura ambiente. Dopo l'uso, riportare il reagente a 2-8°C il prima possibile.

Precauzioni

- Il reagente è destinato esclusivamente a fini diagnostici *in vitro*.
- Non utilizzare se l'assorbanza del reagente iniziale è superiore a 0,800 quando misurata a 405 nm oppure se il reagente non rispetta i parametri indicati.
- Non pipettare per bocca. Evitare l'ingestione e il contatto con la pelle; la tossicità non è ancora stata accertata.
- I reagenti di questo kit contengono di sodio azide come conservante, che può formare composti esplosivi nelle condotte di scarico metalliche. Quando si smaltiscono i reagenti attraverso le tubature, sciacquare con abbondanti quantità di acqua. Per maggiori informazioni, si rimanda a "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts," nella guida Manual Guide-Safety Management n. CSC-22 pubblicata dal Centers for Disease Control, Atlanta, Georgia.

Raccolta e conservazione dei campioni

- Utilizzare esclusivamente siero. L'attività della GGT è inibita dalla maggior parte degli anticoagulanti.
- La raccolta dei campioni deve essere effettuata secondo le indicazioni del documento NCCLS M29-T2. Nessun metodo può offrire la totale certezza che i campioni di sangue umano non trasmettano infezioni. Pertanto, tutti i campioni di sangue devono essere considerati potenzialmente infettivi.

- La GGT sierica risulta stabile per sette giorni se conservata a 2-25°C, per un mese se conservata a 4°C e per un anno se conservata a -20°C e protetta dall'evaporazione.⁷
- Tutti i campioni e i controlli devono essere trattati secondo le buone pratiche di laboratorio, utilizzando opportune precauzioni descritte nel manuale CDC/NIH, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 2^a ed., 1988, HHS n. (CDC) 88-8395.

Interferenze

- La maggior parte degli anticoagulanti utilizzati nelle provette per il prelievo del sangue inibisce l'attività della GGT.⁸
- I farmaci antiepilettici (fenitoina e barbiturici) possono innalzare falsamente i livelli di GGT.^{9,10}
- È stato riscontrato che livelli di bilirubina fino a 20 mg/dl producono un'interferenza trascurabile (< 5%) per questo esame.
- Si è riscontrato che livelli di emoglobina pari a 100-500 mg/dl producono una diminuzione minima (circa il 5-7%) dell'attività della GGT.
NOTA: I livelli di GGT erano di 45 U/L per lo studio con la bilirubina e di 48 U/L per lo studio con l'emoglobina.
- Per un elenco completo delle interferenze farmacologiche, si rimanda a Young et al.¹¹

Materiali in dotazione

Reagenti (R1 e R2) per GGT

Materiali necessari non in dotazione

- Analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240
- Manuale utente per gli analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240
- Controllo chimico, numero di catalogo C7592-100

Parametri di analisi

Analisi:	GGT	Sostanza chim.: Glutamyl Transferase
N. chim:	217	Nome etichetta: GGT
Tipo reazione:	cinetica	Direzione reazione: positiva
Lungh. d'onda prim.:	405 nm	Lungh. d'onda sec. 670 nm
Decimale:	0	Tipo campione: siero
T. bianco:		T. reazione: 3 11
Unità:	U/L	T. incubazione: 3

Vol. campione	Aspirato	Diluente	Vol. reagente	Diluente
Standard: 9	ul	ul	R1: 180	ul
Decremento: ul	ul	ul	R2: 45	ul
Incremento:	ul	ul	ul	

Intervallo linearità (standard);	0-800	Limite linearità: 0.3
Intervallo linearità (decremento):		Esaurim. substrato: 25,000
Intervallo linearità (incremento):		Assorb. bianco mix: -40000 40000
Assorb. bianco R1:	-40000 40000	Stabilità in macchina: 30
Giomo/i		
Risposta bianco	-40000 40000	Limite allarme reagente: 5

Doppia chim.:

Controllo eff. prozona:		
Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Risultato qualitativo:	
Intervallo:	Val. fuori norma:

Pendenza Offset:

Kit reagenti liquidi GGT (γ -glutamyl transferasi) Pointe

Pendenza 1 Offset 0 Unità U/L

Tratt. preliminare:
Vol. campione pretratt.: ul Vol. reagente pretratt.: ul

Intervallo rif.:
Tipo campione: Sesso: Intervallo età: Intervallo rif.: Intervallo critico:
Unità:

Parametri di configurazione della calibrazione

Analisi chim.	GGT	Calibratore	Conc.	Pos.	N. lotto:
Impostazioni calibr.		acqua	0,0	W	
Modello mat.: Fattore K					
Fattore: 2642.000	Repliche: 2				
Limiti accettabilità					
T. calibr.: 24 h					
Diff. pendenza: DS:					
Sensibilità: Ripetibilità:					
*Def. utente					
Coeff. deter.:					
Calibr. autom.					
T. calibr.					

Limitazioni

I campioni che superano il limite di linearità (800 U/L) devono essere diluiti con pari volume di soluzione fisiologica e nuovamente analizzati e i risultati vanno moltiplicati per 2.

Calibrazione

La procedura è calibrata per mezzo dell'assorbività millimolare del 5-amino-2-nitrobenzoato, considerata pari a 9,5 a 405nm nelle condizioni specificate. I risultati vengono calcolati in base alla variazione di assorbanza al minuto. Tutti i parametri devono essere noti e controllati.

Calcolo (esempio)

L'attività della GGT viene espressa in unità/litro. A 37° C, un'unità internazionale (U/L) è definita come la quantità di enzima che catalizza la trasformazione di una micromole di substrato al minuto in condizioni definite.

$$\frac{\Delta \text{Abs./min} \times TV \times 1000}{MMA \times SV \times LP} = \text{U/L di GGT nel campione}$$

$\Delta \text{Abs./min}$variazione dell'assorbività al minuto.
TV.....volume totale di analisi (1,100ml).
1000..... conversione di ml in L.
MMA.....assorbività millimolare del 5-amino-2-nitrobenzoato (9.5).
SV.....volume del campione (0,100ml).
Lp.....percorso luce (1cm).

$$\frac{\Delta \text{abs./min} \times 1.100 \times 1000}{9,5 \times 0,100 \times 1,0} = \Delta \text{ abs./min} \times 1158$$

Allora: $\Delta \text{ abs./min} \times 1158 = \text{U/L di sostanza}$

Esempio: Se $\Delta \text{ abs./min} = 0,06$, allora $0,03 \times 1158 = 69 \text{ U/L}$

Nota: Se uno dei parametri di cui sopra viene modificato, è necessario ricalcolare un nuovo fattore.

Controllo qualità

La bontà della reazione va monitorata utilizzando sieri di controllo con valori normali e patologici noti di GGT. I controlli vanno eseguiti in ogni turno in cui si effettuano dosaggi della GGT. Si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca la frequenza interna dei controlli. Il controllo qualità richiesto va eseguito in conformità con le normative locali, statali e/o federali o ai requisiti di accreditamento.

Valori attesi¹²

Uomini: 8-37 U/L a 30°C, 9-54 U/L a 37°C

Donne: 6-24 U/L a 30°C, 8-35 U/L a 37°C

In considerazione dell'ampio ventaglio di condizioni (alimentari, geografiche, anagrafiche, ecc.) che si ritiene possano incidere sui range di normalità, si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca il proprio intervallo di riferimento per la procedura.

Prestazioni

- Linearità: 0-800 U/L. I campioni superiori a 800 U/L vanno diluiti con pari volume di soluzione fisiologica e nuovamente analizzati. Moltiplicare i risultati per 2.
- Comparazione: È stato condotto uno studio comparativo tra l'impiego dell'analizzatore Yumizen serie 200 e di un analizzatore simile per l'applicazione del metodo. Si è ottenuto un coefficiente di correlazione di 0,998 e l'equazione di regressione $y = 1,02x + 4,8$.
- Precisione: Gli studi sulla precisione sono stati eseguiti seguendo una modifica delle linee guida contenute nel documento EP5-T2 dell'istituto NCCLS.¹³

Intra saggio

Media	D.S.	C.V.%	Media	D.S.	C.V.%
25,4	0,70	2,6	28,9	1,1	3,8
71,7	0,90	1,2	76,8	2,4	3,1

Inter-giorn.

- Sensibilità: La sensibilità del reagente liquido per GGT è stata studiata leggendo la variazione dell'assorbività per un campione di soluzione fisiologica e per campioni di siero con concentrazioni note. Sono state eseguite dieci repliche per ogni campione. I risultati di questa indagine hanno indicato che, sull'analizzatore utilizzato, il reagente liquido per GGT ha mostrato una deriva minima o nulla sul campione zero. Nelle condizioni di reazione descritte, 1 U/L dà un abs./min. di 0,0003.

Riferimenti bibliografici

- Tietz, N.W., editor, Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd Ed., W.B. Saunders Co., 391 (1987).
- Demetriou, J.A., Drewes, P.A., Gin, J.B., Clinical Chemistry: Principles and Technics, 2nd Ed., Hagerstown (MD), Harper Row, pp 872-873 (1974).
- Orlowski, M., Meister, A., Biochem. Biophys. Acta 73:679 (1963).
- Kulhanek, V., Dimov, D.M., Clin. Chem. Acta 14:619 (1966).
- Szasz, G., Clin. Chem. 15:124 (1969).
- Szasz, G., Persijn, J.P., et al, A Klin. Chem. Klin. Biochem. 12:228 (1974).
- Zern, M., and Discombe, G., Lancet 2:748 (1971).
- Wolf, P.L., et al, Practical Clinical Enzymology and Biochemical Profiling, New York, Wiley-Interscience p.37 (1973).
- Rosalki, S.B., et al, Lancet 2:376 (1971).
- Whitfield, J.B., et al, Gut 13:702(1972).
- Young, D.S., et al, Clin. Chem. 21:1D (1975).
- Kaplan, L.A., Pesce, A.J. Clinical Chemistry, 2nd Ed., St. Louis, C.V. Mosby Company, (1992).
- Documento NCCLS "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992)

Legenda

Utilizzare entro (aaaa-mm-gg)	LOT Codice lotto e gruppo
REF N. catalogo	Fabbricante
IVD Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>	Limiti di temperatura
Consultare il manuale utente	Rx Only: utilizzare solo su prescrizione
Marchio CE	EC REP Rappresentante autorizzato per la Comunità Europea

REF 12-G7571-100

Prodotto da
HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand
5449 Research Drive Canton, MI 48188



Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Rappresentante autorizzato per l'Europa:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Bruxelles, BELGIO

tel: (32)2.732.59.54 fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



Reagenti certificati

I reagenti Pointe sono certificati per essere stati prodotti conformemente ai parametri specificati. Se entro la data di scadenza un reagente Pointe dovesse risultare non conforme alle specifiche, sarà prontamente sostituito senza alcun addebito.