

INFORMAZIONE PER L'ORDINE

	Codice	Composizione
OPEN KONELAB INDIKO	REF B75182553	n° 10 flaconi x 16 mL (R.A) n° 2 flaconi x 21 mL (R.B)
	REF B75182554	n° 15 flaconi x 4 mL (R.A) n° 1 flaconi x 16 mL (R.B)
CHEMILAB	REF B81180271	n° 2 flaconi x 33 mL (R.A) n° 2 flaconi x 8 mL (R.B)
	REF B81180272	n° 7 flaconi x 33 mL (R.A) n° 5 flaconi x 11 mL (R.B)

DESTINAZIONE D'USO

Determinazione quantitativa in vitro dell'attività della Gamma-glutamyl transferase (γ-GT) nel siero e plasma umani. I risultati del test devono sempre essere interpretati in relazione al contesto clinico. SOLO PER USO PROFESSIONALE.

SIGNIFICATO CLINICO

Benché la γ-GT sia presente in una varietà di tessuti, l'enzima nel siero sembra appartenere principalmente al sistema epatobiliare. Di conseguenza, livelli elevati di γ-GT sono riscontrabili in tutte le forme di malattie o danni al fegato. Da un punto di vista clinico è utile per la diagnosi di itterizia ostruttiva, colangite e colecistite. Livelli elevati sono osservabili in concomitanza all'assunzione di farmaci (alcol, sedativi, anticonvulsivi e calmanti).

PRINCIPIO DEL METODO

Metodo enzimatico cinetico Szasz.

Nel 1963 Orłowski descrisse un metodo per la determinazione della γ-GT utilizzando come substrato la γ-glutamyl-4-nitroanilide e misurando l'assorbimento della 4-nitroanilina a 405 nm. Nel 1969 Szasz utilizzò questo substrato per la determinazione cinetica colorimetrica dell'attività della γ-GT nel siero. Nel 1974 Szasz propose l'utilizzo del substrato γ-glutamyl-3-carbossi-4-nitroanilide. Il metodo descritto da Szasz nel 1969 è raccomandato dalla Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology. Il metodo Sclavo γ-GT test è basato sulle raccomandazioni della Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology. La gamma glutamil transpeptidasi (γ-GT) catalizza il trasferimento del gruppo-γ-glutamyl dal substrato γ-glutamyl-3-carbossi-4-nitroanilide alla glicilglicina liberando L-glutamyl-glicilglicina e la 5-ammino-2-nitrobenzoato.

L-Gamma-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide + Glycylglycine $\xrightarrow{\text{Gamma-GT}}$

Gamma-glutamyl-glycylglycine + 5-Amino-2-nitrobenzoate

La velocità di formazione della 5-ammino-2-nitrobenzoato misurata a 405 nm è proporzionale all'attività della γ-GT.

Conservazione e stabilità

 = Temperatura di conservazione 2-8 °C

Conservati a 2 - 8 °C evitando la luce diretta, i reattivi sono stabili fino alla data di scadenza riportata sulla etichetta.

Composizione

Reagente A:			
	Conc.	U.M.	
Tampone di Good's	100	mmol/L	
γ-glutamyl-3-carbossi-4-nitroanilide	4,00	mmol/L	
Reagente B:			
Glicilglicina	750	mmol/L	 *GHS07

* Avvertenza: ATTENZIONE

H315 Provoca irritazione cutanea.

H319 Provoca grave irritazione oculare.

P264 Lavare accuratamente dopo la manipolazione.

P280 Indossare protezioni per gli occhi/viso.

P305+P351+P338 IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: Risciacquare accuratamente con acqua per alcuni minuti. Rimuovere le lenti a contatto, se presenti e facile da fare. Continuare il risciacquo.

P332+P313 In caso di irritazione cutanea: consultare un medico.

P362+P364 Rimuovere gli indumenti contaminati e lavarli prima di riutilizzarli.

P337+P313 Se l'irritazione oculare persiste: consultare un medico.

Materiali inclusi nel kit

Reagente come descritto.

Materiali necessari non inclusi nel kit

Controlli, calibratori e pipette con volume adeguato.

PRECAUZIONI e AVVERTENZE

- Lo smaltimento dei reagenti e dei materiali di scarto deve avvenire in accordo con le disposizioni comunitarie in materia di rifiuti o con le disposizioni nazionali o regionali vigenti.
- I reagenti possono contenere componenti non attivi quali conservanti e detergenti. La concentrazione totale di tali componenti è inferiore ai limiti riportati nel Regolamento 1272/2008 CE e successive modifiche e integrazioni.
- Si raccomanda di maneggiare il reagente secondo le regole della buona pratica di laboratorio e di utilizzare adeguati dispositivi di protezione individuale.
- Non utilizzare il reattivo se risulta visibilmente degradato (es. presenza di corpuscoli).
- Tutti i campioni umani devono essere manipolati ed eliminati come materiali potenzialmente infettivi.
- Il kit deve essere utilizzato solo da personale tecnico qualificato e adeguatamente formato.
- Le diagnosi sono effettuate esclusivamente da personale autorizzato e qualificato.
- Rispettare le direttive nazionali in materia di sicurezza sul lavoro e garanzia della qualità.
- Utilizzare attrezzature conformi alle norme vigenti.

Segnalazione di incidenti gravi

Nel caso si verifichi un incidente grave in relazione all'utilizzo del dispositivo si prega di informare il produttore (tramite il proprio distributore) e l'Autorità Competente dello Stato membro dell'Unione Europea in cui si è verificato l'incidente. Per altre giurisdizioni, le segnalazioni devono essere effettuate in conformità con i requisiti normativi relativi ai singoli stati. La segnalazione di incidenti gravi aiuta a fornire maggiori informazioni relativamente alla sicurezza del dispositivo medico diagnostico.

PROCEDIMENTO

Controllo Qualità

Sieri di controllo a titolo noto contenenti γ-GT sono commercialmente reperibili per il controllo qualità, con inclusi certificati di analisi riportanti i valori ed i limiti di confidenza. Sono disponibili i sieri di controllo normali e patologici Sclavo Diagnostics: Clinicontrol N 5x5mL cod. B35181700 e Clinicontrol A 5x5 mL cod. B35181701.

Calibrazione

Per la calibrazione utilizzare il kit Siero di calibrazione Sclavo cod. B35181702.

Tracciabilità:

La tracciabilità della γ-GT è visibile nell'insero della confezione del siero di calibrazione.

CAMPIONE

Tipo di campione e conservazione

Può essere utilizzato siero o plasma prelevato in EDTA, o eparina, o citrato, o miscela ossalato-fluoruro. Utilizzare campioni privi di emolisi. La γ-GT è stabile nel siero per almeno una settimana a temperature comprese tra - 4°C e + 20°C e 3 mesi a - 20°C.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE

Aggiungere 1 volume di Reagente B a 4 volumi di Reagente A e miscelare delicatamente. La soluzione di lavoro è stabile almeno 30 giorni a 2-8 °C ed al riparo della luce. Non utilizzare il reagente di lavoro se presenta una D.O. iniziale superiore a 0,900 contro acqua distillata a 405 nm. Una leggera variazione nella colorazione, da lotto a lotto, non influisce sui risultati del test.

Automazione

Il kit può essere utilizzato con tutti gli analizzatori automatici che possano soddisfare le condizioni operative del reagente mantenendo inalterati i rapporti volumetrici R1/R2/C. Sono disponibili le applicazioni validate per le strumentazioni Sclavo Konelab® - Indiko® e CHEMILAB. Le applicazioni non approvate da Sclavo Diagnostics non garantiscono le prestazioni del reagente e devono quindi essere approvate sotto la responsabilità dell'utente.

METODO MANUALE

Il kit, nel formato Open, può essere utilizzato con metodo manuale tramite l'utilizzo di spettrofotometro o fotometro con i parametri sotto riportati:

Condizioni di reazione

Lunghezza d'onda (primaria): 405 nm
Temperatura: 37°C
Reazione: Cinetica (in incremento)

Tecnica – Monoreattivo

- Portare i reattivi a temperatura di reazione e operare al riparo dalla luce diretta.

	U.M.	Siero di Calibrazione	Campione
Reagente (A+B)	U/L	1000	1000
Siero di Calib.	U/L	100	-
Campione	U/L	-	100

Miscelare con delicatezza quindi incubare a 37°C per 60 secondi.



Dopo l'incubazione, eseguire la prima lettura a 405 nm. Ripetere la lettura ad intervalli di 1 minuto. Sono raccomandate almeno n° 3 ripetizioni di lettura nei tempi prescelti. Determinare la media tra i Δ D.O./min.

I volumi di reazione possono essere variati proporzionalmente senza alterare i risultati.

Risultati:

Metodo Manuale

Calcolo della concentrazione della y-GT:

$$\frac{\Delta D.O. \text{ Campione}}{\Delta D.O. \text{ Siero di Calibrazione}} \times \text{Concentrazione Calibratore} = \text{U/L di } \gamma\text{-GT}$$

Automazione

I risultati vengono calcolati automaticamente dall'analizzatore in base alla retta di calibrazione. L'analizzatore esegue automaticamente la calibrazione nel rispetto del protocollo del metodo. La retta di calibrazione viene calcolata automaticamente dai singoli strumenti.

Calcolo dei risultati ottenuti contro fattore di moltiplicazione

Δ D.O./min x K-factor* = U/L di γ -GT

Spiegazione della formula:

$$\frac{Vt \times 1000}{C.M.E. \times P.O. \times Vc} = K\text{-factor} * \Delta D.O./\text{min} = \text{U/L } \gamma\text{-GT}$$

*K-factor = 1111

Dove:

U/L = attività in unità internazionali per litro

Δ D.O./min. = variazione dell'assorbanza per minuto

Vt = volume totale della reazione (μ L)

1000 = conversione della concentrazione al litro

C.M.E. = coefficiente μ molare di estinzione della 4-nitroanilina 9,9 cm/ μ mol a 405 nm

P.O. = percorso ottico (1,0 cm)

Vc = volume del campione nella miscela finale di reazione (μ L)

INTERVALLO DI RIFERIMENTO

	Femmine	Maschi
Bambini / Adolescenti		
1 giorno – 6 mesi	15-132 U/L	12-122 U/L
6 mesi – 1 anno	1-39 U/L	1-39 U/L
1 -12 anni	4-22 U/L	3-22 U/L
13 – 18 anni	4-24 U/L	2-42 U/L
Adulti	< 38 U/L	< 55 U/L

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri valori normali in funzione della popolazione su cui opera

CARATTERISTICHE / PRESTAZIONI

Linearità

Il metodo è lineare fino a 900 U/L di γ -GT. Per concentrazioni superiori ripetere il test sul campione diluito in soluzione fisiologica quindi moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

Esattezza

Sieri di controllo commerciali sono stati analizzati con il kit in oggetto seguendo le linee guida del protocollo CLSI. I dati ottenuti sono riportati nella tabella successiva.

Livello	Replicati	Media	DS	CV%	Recovery
Basso	5	28,0	0,00	0,00	108,5 %
Alto	5	121,0	1,09	0,90	100,7 %

Interferenze

L'elevata diluizione del campione con il reattivo riduce al minimo le interferenze dovute ai lipidi.

Interferente	Limite
Acido Ascorbico	30 mg/dL
Bilirubina	40 mg/dL
Emoglobina	400 mg/dL
Trigliceridi	2000 mg/dL

Precisione

Precisione nella serie (Within-run precision) – Ripetibilità					
Range	U.M.	Media	S.D.	C.V. (%)	N°
Basso	U/L	43,6	1,30	3,10	20
Alto	U/L	153,3	2,90	1,90	20
Precisione totale (Within-lab precision)					
Range	U.M.	Media	S.D.	C.V. (%)	N°
Basso	U/L	46,3	1,70	3,70	20
Alto	U/L	87,4	2,50	2,90	20

Limite di sensibilità

Il limite di Sensibilità è stato misurato analizzando diluizioni scalari di un siero concentrato. Alle condizioni stabilite per questo test la più bassa concentrazione rilevabile è di circa di 1,7 U/L di Gamma GT.

Confronto tra metodi

Il metodo è stato confrontato con altro metodo disponibile commercialmente, analizzando 200 sieri umani. I dati di correlazione tra i due metodi sono riportati nella tabella sottostante.

Parametro	Stima
Intercetta	2.0
Slope	0.94
Coeff. Correlazione (R)	0.989

Simboli utilizzati in IFU e Packaging

 Dispositivo medico diagnostico in vitro	 Fabbricante
 Numero di catalogo	 Istruzioni per l'uso
 Numero del lotto	 Temperatura di conservazione
 Data di scadenza	

BIBLIOGRAFIA

1. **Orlowski M., Meister A. (1963)** Gamma-Glutamyl-P-Nitroanilide: a new convenient substrate for determination and study of L-and D- gamma-glutamyltranspeptidase activities. *Biochim Biophys Acta*; 73: 679-81.
2. **Szasz G. (1969)**. A kinetic photometric method for Serum g-glutamyl transpeptidase. *Clin Chem*; 15: 124.
3. **Persijn JP, van der Slik W. (1976)** A new method for the determination of gamma glutamyltransferase in serum. *J Clin Chem Clin Biochem*. 14(9):421-7.
4. **Nielsen L.G., Ash MO (1978)** Adoption of a manual kinetic gamma-glutamyl transferase method in the clinical laboratory. *Amer J Med Technol*; 44: 279-85
5. **Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)**. User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline – Second Edition. EP15-A2. Vol 25 N. 17
6. **Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)**. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurements Methods; Approved Guideline – Second Edition. EP05-A2. Vol 24 N. 25
7. **Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)**. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline – Third Edition. EP09-A3. Vol 33 N. 11

REVISIONE	DATA	MOTIVO DELLA REVISIONE
Rev.A	01/2023	Nuova emissione per adeguamento IVDR Regolamento (UE) 2017/746

