

REF 10219-4 4 x 29 ml/7 ml

TRANSFERAZA GAMMA-GLUTAMYLOWA (GGT)

Każdy z pojemników zawiera 29 ml odczynnika R1 i 7 ml odczynnika R2.

ZASTOSOWANIE

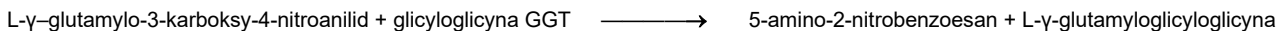
Odczynnik GGT EasyRA służy do ilościowego pomiaru aktywności transferazy gamma-glutamylowej w surowicy ludzkiej i osoczu (stosując heparynę litową jako środek przeciwkrzepliwy) z użyciem analizatora MEDICA EasyRA® Clinical Chemistry Analyzer. Wyłącznie do diagnostycznego stosowania *in vitro*. Tylko do użytku zawodowego.

OPIS I OBJAŚNIENIE

Transferaza gamma-glutamylowa jest katalizatorem transferu grupy γ -glutamylowej z peptydu γ -glutamylowego do aminokwasu innego peptydu. Enzym został po raz pierwszy oczyszczony i scharakteryzowany przez Szewczuka i Baromouskiego.¹ Aktywność GGT we krwi jest wykorzystywana w diagnozowaniu chorób wątroby takich jak marskość alkoholowa oraz pierwotne i wtórne guzy wątroby.² Początkowo pomiar γ -GGT w surowicy opierały się na wykorzystaniu trudno rozpuszczalnego substratu L- γ -glutamylo-P-nitroanilidu.^{3,4} Persijn i Van der Slik⁵ zmodyfikowali metodę, wykorzystując lepiej rozpuszczalny i trwalszy substrat — L- γ -glutamylo-3-karboksy-4-nitroanilid. Międzynarodowa Federacja Chemii Klinicznej (IFCC) dokonała dalszej modyfikacji procedury pomiaru GGT w surowicy.⁶

ZASADY PROCEDURY

Substrat L- γ -glutamylo-3-karboksy-4-nitroanilidu (R2) przenosi swoją grupę glutamylową na glicyloglicynę (R1) w obecności GGT, tworząc 5-amino-2-nitrobenzoesan + L- γ -glutamyloglicyloglicynę.



Produkt w postaci 5-amino-2-nitrobenzoesanu jest mierzony spektrofotometrycznie przy 405 nm. Prędkość powstawania tego związku jest wprost proporcjonalna do stopnia aktywności transferazy gamma-glutamylowej w próbce.

ODCZYNNIKI

Odczynnik buforowy GGT (R1):

L-glicyloglicyna 100 mmol/l
Bufor pH 8,3 (przy 25°C), środek konserwujący

Odczynnik substratu GGT (R2):

L- γ -glutamylo-3-karboksy-4-nitroanilid 4 mmol/l

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Podczas używania dowolnego odczynnika laboratoryjnego należy przestrzegać dobrych praktyk bezpieczeństwa. (CLSI, GP17-A2).
2. Odczynniki zawierają mniej niż 0,1% azotku sodu, który może wejść w reakcję z przewodami ołowianymi lub miedzianymi, tworząc azydki metali o silnych właściwościach wybuchowych. Informacje na temat ryzyka, zagrożeń i bezpieczeństwa znajdują się w arkuszu Dane bezpieczeństwa.
3. Tak jak w przypadku wszystkich procedur diagnostycznych, wyniki powinny zostać zinterpretowane z uwzględnieniem wyników wszelkich innych badań i statusu klinicznego pacjenta.
4. Nie używać mytych kuwet.

INSTRUKCJE DOTYCZĄCE UŻYCIA, PRZECHOWYWANIA I STABILNOŚCI ODCZYNNIKA

Odczynnik jest gotowy do użycia w dostarczonej postaci. Nieotwarty odczynnik pozostaje stabilny, aż do upłynięcia daty ważności (na etykiecie), jeśli jest przechowywany w temp. 2 – 8°C. Odczynnik pozostaje stabilny w komorze chłodniczej odczynników analizatora chemicznego EasyRA przez ilość dni zaprogramowaną w module RFID na pojemniku odczynnika. Nie używać odczynnika, jeśli jest mętny lub zanieczyszczony, lub jeśli wskazuje błędne wartości podczas porównania ze znanymi wartościami kontrolnymi.

POBIERANIE I PRZECHOWYWANIE / STABILNOŚĆ PRÓBEK

Należy używać czystej, niehemolizowanej surowicy i osocza. Do pobierania osocza można używać probówek pokrytych heparyną litową. Próbkę surowicy i osocza bez środków konserwujących należy jak najszybciej oddzielić od komórek i skrzeplin. GGT w surowicy i osoczu pozostaje stabilna przez 2 dni w temperaturze 18 – 25°C, 1 tydzień w temperaturze 2-8°C i 1 miesiąc w temperaturze -25°C.⁷

PROCEDURA

Dostarczone materiały

Pojemnik odczynnika amylazy GGT (Medica GGT Reagent Wedge), NR REF. 10219-4

Wymagane materiały dodatkowe

Medica EasyQC Chemistry/Electrolytes – Poziom A, NR REF 10793

Medica EasyQC Chemistry/Electrolytes – Poziom B, NR REF 10794

Pojemnik z barwnikiem do testu precyzji Medica (Medica Precision Test Dye Wedge), NR REF. 10764

Pojemnik ze środkiem czyszczącym Medica (Medica Cleaner Wedge – Chemistry & ISE Wedge), NR REF. 10660 *lub*

Pojemnik ze środkiem czyszczącym Medica (Medica Cleaner Wedge – Chemistry), NR REF. 10661

Sposób użycia

Odczynnik jest gotowy do użycia w dostarczonej postaci. Zdjąć korek i umieścić odczynnik na tacy odczynników analizatora EasyRA znajdującej się na obszarze odczynników. Stabilność podczas przechowywania w systemie (maksymalnie 60 dni) programowana jest w układzie RFID na pojemniku odczynnika.

Uwaga: Przed umieszczeniem pojemnika w analizatorze EasyRA sprawdzić, czy po zdjęciu korków wewnątrz szyjek pojemnika nie wytworzyła się piana. Jeśli pojawiła się piana, usunąć ją wacikiem lub jednorazową pipetką przed przeprowadzeniem badania. Używać oddzielnych czystych wacików lub pipetek do czyszczenia części odczynników R1 i R2.

Kalibracja

Nie dotyczy.

Kontrola jakości

Zaleca się przeprowadzanie kontroli jakości badania surowicy ludzkiej na dwóch poziomach (normalnym i abnormalnym) przynajmniej raz dziennie w przypadku badania pacjenta oraz po każdorazowej zmianie partii odczynników. Problemy z uzyskaniem odpowiedniego zakresu wartości podczas oznaczania materiału kontrolnego mogą wskazywać na degradację odczynnika, usterkę instrumentu lub błędy proceduralne. Podczas korzystania z materiałów kontroli jakości w laboratorium należy stosować lokalne, stanowe i federalne wytyczne kontroli jakości.

Wyniki

Po zakończeniu oznaczania analizator chemiczny EasyRA oblicza stężenie GGT na podstawie zanotowanej zmiany absorbancji na minutę, objętości próbki, całkowitej objętości reakcji, długości ścieżki (cm) równej 0,6 i absorpcyjności molowej równej 9,5.

$$\text{GGT (U/l)} = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{Całkowita objętość}(\mu\text{l}) \times 1000)}{(\text{Absorpcyjność molowa} \times \text{Długość ścieżki}(\text{cm}) \times \text{Objętość próbki}(\mu\text{l}))}$$

Jednostka na liter (U/l) aktywności GGT to ilość enzymu, która produkuje jeden $\mu\text{mol/l}$ NADH na minutę.

Przewidywane wartości⁴

Zakres referencyjny dla GGT w surowicy i osoczu jest następujący:

Dorosły mężczyzna: 9 – 52 U/l (w temp. 37°C)

Dorośla kobieta: 5 – 32 U/l (w temp. 37°C)

Wartości te stanowią wytyczne. Zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło własny zakres wartości przewidywanych, gdyż istnieją różnice pomiędzy instrumentami, laboratoriami oraz mieszkańcami różnych regionów.

Ograniczenia proceduralne (np. w przypadku wykroczenia próbki poza zakres oznaczania)

Jeśli zmiana absorbancji na minutę ($\Delta A/\text{Min}$) przekracza 0,1357, co odpowiada w przybliżeniu 1000 U/l, analizator oznaczy wyniki jako „SD” (wyczerpanie substratu). W przypadku wybrania ikony „Re-run” (Uruchom ponownie), próbka może zostać ponownie zbadana przy użyciu połowy (1/2) objętości próbki. Wyniki ponownej analizy zostają obliczone z uwzględnieniem zmniejszonej objętości próbki. Spowoduje to rozszerzenie raportowanego zakresu oznaczania GGT do 2000 U/l.

CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCI⁸

Zakres raportowany

Raportowany zakres wynosi od 7 do 1000 U/l. Zakres rozszerzony wynosi od 7 do 2000 U/l przy użyciu połowy próbki (roztwór 1:1).

Niedokładność/korelacja (CLSI, EP9-A2)

Poniższa tabela zawiera wyniki porównania odczynnika GGT Medica (y) w analizatorze EasyRA wykorzystującym tylko główną długość fali wielkości 405 nm z tym samym odczynnikiem GGT (x) w analizatorze EasyRA wykorzystującym główną długość fali wielkości 405 nm i drugorzędą długość fali wielkości 700 nm. Przedstawione dane to wyniki dla pojedynczych oznaczeń wykorzystujących główną długość fali wielkości i drugorzędą długość fali wielkości na analizatorze Medica EasyRA (Medica EasyRA Chemistry Analyzer) w porównaniu z przeciętnie dwiema powielanymi wartościami uzyskanymi wykorzystując główną długość fali wielkości na analizatorze EasyRA.

Ilość próbek	47	Zakres próbek	10 – 903 U/l
Nachylenie	1,0213	Wychwytywanie y	-0,9888
Współczynnik korelacji	0,9999	Równanie regresji	$Y = 1,0213 \cdot X - 0,9888$

Poniższa tabela zawiera wyniki porównania odpowiadających sobie próbek surowicy (x) oraz Li-heparynizowanego osocza (y) z użyciem odczynnika Medica GGT w analizatorze EasyRA. Poniższe dane odpowiadają pojedynczemu oznaczeniu dla osocza i średniej z dwóch powielanych wartości dla surowicy.

Ilość próbek	80	Zakres próbek	10 do 1057 U/l
Nachylenie	1,0319	Wychwytywanie y	-3,8998
Korelacja	0,9997	Równanie regresji	$Y = 1,0319 \cdot X - 3,8998$

Niedokładność (CLSI, EP5-A2)

Podwójne pomiary każdego z trzech poziomów materiałów były testowane dwa razy dziennie przez 20 dni. Dane te posłużyły do ustalenia zarówno dokładności wewnątrz przebiegu, jak i całkowitej.

Niedokładność wewnątrz przebiegu:

Poziom U/l	SD wewn. przebiegu U/l	CV wewn. przebiegu %
88	1,0	1,2
61	1,0	1,7
34	0,9	2,5

Niedokładność całkowita:

Poziom U/l	SD niedokł. całkowita U/l	CV niedokł. całkowita %
88	1,9	2,1
61	1,5	2,4
34	1,0	3,0

Liniowość (CLSI, EP6-A)

Liniowe od 7 do 1000 U/l, na podstawie równania regresji liniowej $Y = 1,0126 \cdot X + 0,6421$.

Granica próby ślepej (LOB):	4,0 U/l	(CLSI, EP17-A)
Granica wykrywania (LOD):	5,3 U/l	(CLSI, EP17-A)
Granica oznaczania ilościowego (LoQ):	6,6 U/l	(CLSI, EP17-A)

Interferencja (CLSI, EP7-A)

Interferencja poniżej 10% została sklasyfikowana jako „brak znaczącej interferencji”.

Interferencja hemoglobiny, nawet w minimalnych stężeniach. Nie używać próbek hemolizowanych.

Nie zanotowano znaczącej interferencji dla bilirubiny całkowitej na poziomie do 35 mg/dl.

Nie zanotowano znaczącej interferencji dla bilirubiny bezpośredniej na poziomie do 20 mg/dl.

Nie zanotowano znaczącej interferencji dla trójglicerydów na poziomie do 667 mg/dl (przy użyciu Intralipidu*).

*Intralipid jest zarejestrowanym znakiem towarowym Pharmacia AB, Clayton, NC.

Young przedstawia listę leków i innych substancji będących przyczyną interferencji w klinicznych testach chemicznych.^{9, 10}

LITERATURA

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) str. 848-849.
3. Orłowski M, Meister A. *Biochem Bioph 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) str. 1072.
8. Dane własne 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.

PARAMETRY OZNACZANIA EASYRA (GGT)

Podstawowa długość fali (nm)	405
Drugorzędna długość fali (nm)	700
Typ reakcji	Enzymatyczna (0)
Kierunek reakcji	Rosnący
Odczynnik ślepy	Nie
Próba ślepa	Nie
Maks. zmiana abs. w pierwszym okr.	0,054
Czas reakcji	7,2 min.
Odstęp między kalibracjami (maksymalny)	Nie dotyczy
Stabilność odczynnika w systemie	60 dni

Surowica/Osocze

Obj. próbki (μ l)	5,0
Obj. rozcieńczalnika (μ l)	40
Obj. odczynnika R1 (μ l)	132
Obj. odczynnika R2 (μ l)	33
Miejsca po przecinku (domyślnie)	0
Jednostki (wartości domyślne)	U/l
Współczynnik rozcieńczenia	1:1 (zwiększającego zakres pomiaru)
Liniowość	7 do 1000 U/l
Absorpcyjność molowa	9,50