

REF 10219-4 4 x 29 мл / 7 мл

ГАММА-ГЛУТАМИЛ ТРАНСФЕРАЗА (ГГТ)

Каждый контейнер содержит полезный объем из 29 мл реагента R1 и 7 мл реагента R2.

НАЗНАЧЕНИЕ

Реагент ГГТ EasyRA предназначен для количественного определения активности гамма-глутамил трансферазы в человеческой сыворотке и плазме (с использованием литий-гепарина в качестве антикоагулянта) с помощью клинического биохимического анализатора MEDICA EasyRA® в клинических лабораториях.

Для диагностического применения *in vitro*. Только для профессионального применения.

КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ И ОБОСНОВАНИЕ

Гамма-глутамил трансфераза катализирует перенос γ -глутаминовой группы из γ -глутамилового пептида в аминокислоту другого пептида. Фермент был впервые описан и выделен в очищенном виде Szewczuk и Varomouski.¹ Активность ГГТ в крови используется для диагностики заболеваний печени, таких как алкогольный цирроз и первичные и метастатические опухоли печени.² Более раннее определение γ -ГГТ включало использование относительно нерастворимого вещества L- γ -глутамил-P-нитроанилида.^{3,4} Persijn и Van der Slik⁵ модифицировали метод путем использования более растворимого и стабильного субстрата – L- γ -глутамил-3-карбокси-4-нитроанилида. Международная федерация химиотерапии (IFCC) в дальнейшем модифицировала эту процедуру измерения ГГТ в сыворотке.⁶

ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ

Вещество L- γ -глутамил-3-карбокси-4-нитроанилид (R 2) переносит свою глутаминовую группу в глицил-глицин (R 1) в присутствии ГГТ, образуя 5-амино-2-нитробензоат + L- γ -глутамилглицил-глицин.

L- γ -глутамил-3-карбокси-4-нитроанилид + глицил-глицин ГГТ \longrightarrow 5-амино-2-нитробензоат + L- γ -глутамилглицил-глицин.

Продукт 5-амино-2-нитробензоат измеряется спектрофотометрически при длине волны 405 нм. Степень образования этого компонента прямо пропорциональна активности гамма-глутамил трансферазы в образце.

РЕАГЕНТЫ

Буферный реагент ГГТ (R1):

L-глицилглицин 135 ммоль/л
Буфер, pH 8,3 (при 25 °C) и консервант.

Субстратный реагент ГГТ (R2):

L- γ -глутамил-3-карбокси-4-нитроанилид, pH 6,00 22 ммоль/л

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. При работе с любыми лабораторными реактивами должны соблюдаться стандарты безопасности надлежащей лабораторной практики. (CLSI, GP17-A3).
2. Реактивы содержат менее 0,1% азиды натрия, который может вступать в реакцию со свинцовыми и медными участками трубопровода с образованием взрывоопасных азидов металлов. Обратитесь к Спецификации по безопасности для получения информации по риску, потенциальной опасности и безопасности.
3. Как и при любой диагностической процедуре, результаты должны интерпретироваться только в совокупности с результатами всех остальных анализов и клинического обследования пациента.
4. Не используйте вымытые кюветы.

ИНСТРУКЦИИ ПО ОБРАЩЕНИЮ, ХРАНЕНИЮ И СТАБИЛЬНОСТИ

Данный реагент поставляется в готовом к использованию виде. Нераспечатанный реагент стабилен до даты истечения срока годности на этикетке при температуре хранения 2–8 °C. Реагент стабилен внутри клинического биохимического анализатора EasyRA в течение срока, запрограммированного на чипе радиочастотной идентификации (RFID) на контейнере реагента. Не используйте реагент, если он замутнен или непрозрачен, или если в сыворотке не удалось определить известные контрольные значения. Хранить в защищенном от света месте.

ОТБОР ОБРАЗЦОВ И ХРАНЕНИЕ / СТАБИЛЬНОСТЬ

Следует использовать сыворотку и плазму без признаков гемолиза. Для сбора плазмы могут использоваться пробирки с литий-гепариновым покрытием. Образцы сыворотки и плазмы без консерванта необходимо отделить от клеток и сгустков как можно скорее. ГГТ сыворотки и плазмы стабильна в течение 2 дней при 18–25 °C, 1 недели при 2–8 °C и 1 месяца при -25 °C.⁷

ПРОЦЕДУРА

Предоставляемые материалы

Контейнер для реагента ГТТ Medica, REF 10219-4

Необходимые дополнительные материалы

Medica EasyQC® Chemistry/Electrolytes – Уровень А, REF 10793

Medica EasyQC® Chemistry/Electrolytes – Уровень В, REF 10794

Контейнер красителя для точного анализа Medica, REF 10764

Контейнер Medica Cleaner – Chemistry & ISE, REF 10660 или

Контейнер Medica Cleaner – Chemistry, REF 10661

Инструкции по применению

Данный реагент поставляется в готовом к использованию виде. Удалите колпачок и поместите реактив в отделение для реагентов клинического биохимического анализатора EasyRA, расположенное в зоне для реагентов. Автономная стабильность (максимум 60 дней) запрограммирована в чипе RFID на контейнере реагента.

Примечание: проверьте внутреннюю поверхность горловины контейнера на наличие пены после удаления крышки и помещения контейнера в клинический биохимический анализатор EasyRA. В случае наличия пены удалите ее тампоном или одноразовой пипеткой до проведения исследования. Используйте отдельные чистые тампоны или одноразовые пипетки для R1 и R2.

Калибровка

Не применяется.

Контроль качества

Рекомендуется проведение двух уровней контроля анализа на основе человеческой сыворотки (нормальный и аномальный) ежедневно при каждом исследовании пациента и при каждой смене набора реагентов. Отсутствие верного спектра значений при анализе контрольного материала может указывать на нарушение свойств реагента, нарушение работы оборудования или ошибки в процедуре. При использовании калибраторов лаборатория должна соблюдать указания по контролю качества местных и федеральных властей, а также властей штата.

Результаты

После завершения анализа клинический биохимический анализатор EasyRA рассчитывает концентрацию ГТТ по изменению абсорбции в минуту, объёму образца, общему объёму реакции, длине пути (см), равной 0,6, и молярной абсорбирующей способности, равной 9,5.

$$\text{ГТТ (ед/л)} = (\Delta A/\text{мин}) \times \frac{(\text{общий объем (мкл)} \times 1000)}{(\text{молярная абсорбирующая способность} \times \text{длина пути (см)} \times \text{объем образца (мкл)})}$$

Показатель в Ед/л активности ГТТ является количеством фермента, который окисляет один мкмоль/л НАД-Н в минуту.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ⁷

Референсный спектр значений ГТТ в сыворотке и плазме следующий:

Взрослый мужчина: 9–52 ед/л (37 °С)

Взрослая женщина: 5–32 ед/л (37 °С)

Эти значения являются нормой. Из-за существующих различий между приборами, лабораториями и локальными популяциями в каждой лаборатории рекомендуется установить собственный диапазон ожидаемых значений.

Ограничения процедуры (например, если образец выходит за пределы диапазона метода)

Если изменение оптической плотности в минуту ($\Delta A/\text{мин}$) больше, чем 0,1357, что соответствует приблизительно 1000 ед/л, в результате будет виден сигнал «SD» (истощение субстрата). Если оператор выбирает значок «Re-run», образец можно повторно анализировать, используя половину (1/2) его объема. Результаты повторного анализа рассчитываются для отображения анализа меньшего объема образца. Данная процедура позволяет увеличить регистрируемый диапазон анализа ГТТ до 2000 ед/л.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ⁸

Регистрируемый диапазон

Регистрируемый диапазон составляет 7–1000 ед/л. Растянутый диапазон составляет 7–2000 ед/л, если используется половина объема образца сыворотки (раствор 1:1).

Погрешность/корреляция (CLSI, EP09-A2)

В следующей таблице приведены данные, полученные при сравнении реагента Medica для GGT (y) в клиническом биохимическом анализаторе EasyRA при использовании основной длиной волны 405 нм с характеристиками реагента GGT (x) в клиническом биохимическом анализаторе EasyRA использовании основной длиной волны 405 нм и вторичной длиной волны 700 нм. Приведенные ниже данные являются показателями однократных измерений в клиническом биохимическом анализаторе EasyRA использовании длиной волны 405 нм и вторичной длиной волны 700 нм против среднего от двух повторных значений, полученных в клиническом биохимическом анализаторе EasyRA использовании основной длиной волны 405 нм.

Количество образцов	47	Размах выборки	от 10 до 903 ед/л
Угловой коэффициент	1,0213	Отрезок, отсекаемый на оси y	-0,9888
Коэффициент корреляции	0,9999	Уравнение регрессии	$Y = 1,0213 \cdot X - 0,9888$

В следующей таблице приведены данные, полученные при сравнении сопоставленных образцов сыворотки (x) и плазмы с обработкой литий-гепарином (y) с помощью реагента Medica для ГГТ в клиническом биохимическом анализаторе EasyRA. Приведенные ниже данные представляют собой результаты однократных измерений плазмы в сравнении со средним двух значений повторных измерений сыворотки.

Количество образцов	80	Размах выборки	от 10 до 1057 ед/л
Угловой коэффициент	1,0319	Отрезок, отсекаемый на оси y	-3,8998
Коэффициент корреляции	0,9997	Уравнение регрессии	$Y = 1,0319 \cdot X - 3,8998$

Расхождение результатов (CLSI, EP05-A2)

Повторные измерения каждого из трех уровней материала QC проводились дважды в день в течение 20 дней. Из этих данных определялись точность внутри ряда измерений и общая точность.

Погрешность внутри ряда измерений:

Уровень QC ед/л	СО внутри ряда измерений ед/л	КВ внутри ряда измерений %
88	1,0	1,2
61	1,0	1,7
34	0,9	2,5

Общее расхождение результатов:

Уровень QC ед/л	СО общего расхождения результатов: ед/л	КВ общего расхождения результатов: %
88	1,9	2,1
61	1,5	2,4
34	1,0	3,0

Линейность (CLSI, EP06)

Линейные от 7 до 1000 ед/л, основываясь на уравнении линейной регрессии $Y = 1,0126 \cdot X + 0,6421$.

Граница пустого образца (LOB): 4,0 ед/л (CLSI, EP17-A)

Предел обнаружения (LOD): 5,3 ед/л (CLSI, EP17-A)

Предел количественного анализа (LOQ): 6,6 ед/л (CLSI, EP17-A)

Вещества, создающие интерференцию (CLSI, EP07)

Менее 10% интерференции классифицировалось как «отсутствие значимой интерференции».

Возникает интерференция гемоглобина даже в минимальных концентрациях. Не используйте пробы, в которых присутствует гемолиз.

Отсутствие значимой интерференции было найдено для уровней концентрации общего билирубина до 35 мг/дл.

Отсутствие значимой интерференции было найдено для уровней концентрации прямого билирубина до 20 мг/дл.

Отсутствие значимой интерференции было найдено для уровней концентрации триглицеридов до 667 мг/дл (с использованием Intralipid*).

Отсутствие значимой интерференции было найдено для значений аскорбиновой кислоты до 30 мг/дл.

**Intralipid является зарегистрированной торговой маркой Pharmacia AB, Clayton, NC.*

Юнг приводит список лекарственных средств и других веществ, которые создают помехи при клинических лабораторных исследованиях.^{9, 10}

ЛИТЕРАТУРА

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 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) p 1072.
8. Неопубликованные данные 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.

ПАРАМЕТРЫ АНАЛИЗА EASYRA (ГТТ)

Основная длина волны (нм)	405
Вторичная длина волны (нм)	700
Тип реакции	Фермент (0)
Направление реакции	Увеличение
Пустой реагент	Нет
Пустой образец	Нет
Максимальный первый интервал. Отсутствие изменений	0,055
Время реакции	7,2 мин.
Периодичность калибровок (максимальная)	Нет данных
Автономная стабильность реагента	60 дней

Сыворотка/плазма

Объем образца (мкл)	5,0
Объем растворителя (мкл)	40
Объем реактива R1 (мкл)	132
Объем реактива R2 (мкл)	33
Разряды десятичной дроби (по умолчанию)	0
Единицы (значения по умолчанию)	ед/л
Фактор разведения	1:1 (для расширения спектра измерения)
Линейность	от 7 до 1000 ед/л

