

Gamma – GT FS

Szasz mod./IFCC stand.

Diagnostická reagentie pro kvantitativní in vitro stanovení γ - glutamyltransferázy v séru nebo plazmě fotometricky.

Katalogové číslo:

1 2801 99 10 021	R1 5 x 20 ml + R2 1 x 25 ml
1 2801 99 10 026	R1 5 x 80 ml + R2 1 x 100 ml
1 2801 99 10 023	R1 1 x 800 ml + R2 1 x 200 ml
1 2801 99 10 704	R1 8 x 50 ml + R2 8 x 12,5 ml
1 2801 99 10 917	R1 8 x 60 ml + R2 8 x 15 ml
1 2801 99 10 930	R1 4 x 20 ml + R2 2 x 10 ml
1 2801 99 90 314	R1 10 x 20 ml + R2 2 x 30 ml

Shrnutí:

γ -glutamyltransferáza (GGT), rovněž zvaná γ -glutamyltranspeptidáza, je enzym, který je přítomen v játrech a ve žlučovodu, který je nejcitlivějším indikátorem hepatobiliárních onemocnění. Vzhledem k vysoké negativní prediktivní hodnotě pro tyto onemocnění, se měření GGT v širokém měřítku používá za účelem vyloučení hepatického nebo biliárního původu. Spolu s ostatními enzymy, jako např. s alaninaminotransferázou (ALT), aspartátaminotransferázou (AST) a cholinesterázou, je GMT cennou pomůckou pro diferenciální diagnózu u jaterních onemocnění¹.

Metoda:

Kinetické fotometrické stanovení podle Szasze/Persijna². Stanovení bylo také standardizováno v souladu s metodou IFCC (International Federation of Clinical Chemistry)⁴. Výsledky v souladu s IFCC jsou získány za použití speciálního faktoru nebo při použití kalibrátoru (TruCal U) a jeho hodnot pro stanovení podle IFCC.

Princip:

γ -glutamyltransferáza (GGT) katalyzuje přenos γ -glutamylové skupiny z L- γ -glutamyl-3-karboxy-4-nitroanilidu na glycyglycin.

Při této reakci dochází k uvolnění 5-amino-2-nitrobenzoátu, který absorbuje při 405 nm. Nárůst absorbance při této vlnové délce je přímo úměrný katalytické aktivitě GGT.

L- γ -glutamyl-3-karboxy-4-nitroanilid + Glycyglycin
GMT

→ γ -glutamylglycyglycin + 5-amino-2-nitrobenzoát

Reagentie:

Složení a koncentrace

R1:

Tris pufr	pH 8,28	135 mmol/l
Glycyglycin		135 mmol/l

R2:

L- γ -glutamyl-3-karboxy-4-nitroanilid pH 6,0 22 mmol/l

Skladování a stabilita:

Reagentie skladované při 2-8°C jsou stabilní do konce měsíce deklarovaného data na balení. Zabránit kontaminaci. Reagentie se nesmí zamrazit. Činidlo R2 chránit před světlem.

Upozornění:

1. Činidla obsahují azid sodný (0.95 g/L). Nepolykat! Je nutné zabránit styku s pokožkou a sliznicemi.
2. Ve vzácných případech u pacientů s gamapathii se mohou vyskytnout falešné výsledky (8).
3. Při práci s touto reagentií dodržujte nutná bezpečnostní opatření. Více informací naleznete v Bezpečnostním listu. Pro diagnostické použití, výsledky by měly být posuzovány v kontextu historie léčby pacienta, klinickými zkouškami a dalšími nálezy.
4. Pouze pro použití odborně vyškoleným personálem!

Likvidace odpadů:

Likvidujte v souladu s platnými předpisy.

Příprava reagenčních roztoků:

1. Start substrátem: Činidla jsou připravena k přímému použití.

2. Start vzorkem: Činidla smíchat v poměru 4 + 1 (např. 20 ml R1 + 5 ml R2), směsné činidlo je stabilní 4 týdny při 2-8°C nebo 5 dní při 15-25°C. Monoreagent chránit před světlem.

Další potřebné materiály:

NaCl roztok 9 g/l
Obecné laboratorní vybavení.

Vzorek:

Sérum, heparinovaná plazma.
Stabilita⁶ nejméně: 1 týden při -20°C až +25°C
Vzorky lze zamrazit pouze jednou.
Nutno zabránit kontaminaci vzorku.

Pracovní postup:

Aplikace pro automatické analyzátoři je dostupná na vyžádání.

Vlnová délka: 405 nm, 400-420 nm
Kyveta: 1 cm
Teplota: 37°C
Měření: proti reagenčnímu blanku

Start Substrátem

Vzorek/Kalibrátor	Blank	Vzorek
Dest. voda	100 µL	-
Reagent 1	1000 µL	1000
µL	Promíchejte, inkubujte cca. 1 min., poté přidejte:	
Reagent 2	250 µL	250 µL
Promíchejte, odečtěte absorbanci po 1 min. a spusťte stopky.		
Odečtěte absorbanci znovu po 1, 2 a 3 minutách.		

Start vzorkem

Vzorek/Kalibrátor	Blank	Vzorek
Dest. Voda	100 µL	100 µL
Monoreagent	1000 µL	1000 µL
Promíchejte, odečtěte absorbanci po 1 min. a spusťte stopky. Odečtěte absorbanci znovu po 1, 2 a 3 minutách.		

Výpočet:

S faktorem:

Odečtené hodnoty absorbance $\Delta A/\text{min}$ vynásobte odpovídajícím gaktorem uvedeným v tabulce níže:

$\Delta A/\text{min} \times \text{faktor} = \text{GGT aktivita [U/l]}$

	Szasz	IFCC
Start substrátem 405 nm	1421	1606
Start vzorkem 405 nm	1158	1309

S kalibrátorem:

$\gamma - \text{GT [U/L]} = \frac{\Delta A / \text{min Vzorek}}{\Delta A / \text{min Kalibrátor}} \times \text{Křpn. Kalibrátor [U / L]}$

Konverzní faktor:

$\text{GGT [U/l]} \times 0,0167 = \text{GGT [\mu kat/l]}$

Kalibrátor a kontroly:

Pokud je použit TruCal U jako kalibrátor, použijte hodnoty pro metodu dle Szasze respektive IFCC metodu. Pro výpočet podle IFCC metody, standardizace byla provedena podle originální IFCC formulace. Pro vnitřní kontrolu kvality by měly být použity kontrolní materiály TruLab N a P. Každá laboratoř by měla mít nastavena korektivní opatření pro případ, že by kontroly vyšly mimo povolené rozsahy.

	Kat. číslo	Balení
TruCal U	5 9100 99 10 063	20 x 3 ml
	5 9100 99 10 064	6 x 3 ml
TruLab N	5 9000 99 10 062	20 x 5 ml
	5 9000 99 10 061	6 x 5 ml
TruLab P	5 9050 99 10 062	20 x 5 ml
	5 9050 99 10 061	6 x 5 ml

Charakteristiky metody:

Měřicí rozsah:

Na automatických analyzátořech je tato metoda vhodná pro stanovení aktivity GGT až do 1200 U/l.

V případě manuálního stanovení, je metoda vhodná pro měření GGT aktivity do $\Delta A/\text{min}$ 0,20.

Při koncentraci GGT ve vzorku vyšší než měřicí rozsah stanovení je nutno vzorek ředit 1+5 0,9% NaCl a výsledek násobit 6x.

Specificita/Interference:

Nebyla pozorována interference způsobená kyselinou askorbovou do koncentrací 30 mg/dl, bilirubinem do 40 mg/dl, hemoglobinem do 400 mg/dl a lipidy do 2000 mg/dl triglyceridů. Více informací o interferujících látkách naleznete v Young DS⁷.

Citlivost/Limit detekce:

Limit detekce je 2 U/l.

Přesnost:

Přesnost v sérii: (n=20)

Vzorek	Průměr U/l	SD U/l	CV %
vzorek 1	39,9	0,99	2,48
vzorek 2	73,6	0,85	1,16
vzorek 3	206	1,32	0,64

Přesnost ze dne na den: (n=20)

Vzorek	Průměr U/l	SD U/l	CV %
vzorek 1	41,5	0,62	1,49
vzorek 2	72,3	0,61	0,85
vzorek 3	204	0,74	0,36

Srovnání metod:

1. Srovnání stanovení mezi diagnostickou soupravou DiaSys GGT (podle IFCC) (y) a IFCC referenční reagensí (x) bylo provedeno na 51 vzorcích. Rovnice přímky má tvar $y = 1,005x - 0,741$ U/l; $r = 0,999$.

2. Srovnání stanovení mezi diagnostickou soupravou DiaSys GGT (podle Szasze) (y) a komerčně dostupnou soupravou podle Szasze (x) bylo provedeno na 51 vzorcích. Rovnice přímky má tvar $y = 0,996x + 1,354$ U/l; $r = 1,000$.

Referenční hodnoty:

Podle Szasze⁵:

	U/l	µkat/l
Ženy	< 32	< 0,53
Muži	< 49	< 0,82

Podle IFCC:

	Ženy U/l	Muži U/l
Dospělí ⁴	< 38	< 55
Děti/adolescenti ¹		
1 den-6 měsíců	15 - 132	12 - 122
6 měsíců-1 rok	1 - 39	1 - 39
1 - 12 roků	4 - 22	3 - 22
13 - 18 roků	4 - 24	2 - 42

	Ženy/ μkat/l	Muži/ μkat/l
Dospělí⁴	< 0,63	< 0,92
Děti/adolescenti¹		
1 den-6 měsíců	0,250-2,20	0,200-2,03
6 měsíců-1 rok	0,017-0,651	0,017-0,651
1 – 12 roků	0,067–0,367	0,050–0,367
13 – 18 roků	0,067–0,401	0,033–0,701

Každá laboratoř by si měla ověřit, jestli jsou tyto referenční hodnoty vhodné i pro jejich populaci pacientů a stanovit svoje vlastní referenční hodnoty pokud je to nutné.

Literatura:

1. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft;1998.p.80-6.
2. Persijn JP, van der Silk W. A new method for the determination of gamma-glutamyltransferase in serum. J Clin Chem Clin Biochem 1976; 14:421-7.
3. Szasz G. Gamma-Glutamyltranspeptidase. In: Bergmeyer HU. Methoden der enzymatischen Analyse. Weinheim: Verlag Chemie, 1974. p. 757.
4. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Féraud G et al. IFCC primary reference procedure for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 5: Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of g-glutamyltransferase. Clin Chem Lab Med 2002;40:734-8.
5. Fischbach F, Zawta B. Age-dependent reference limits of several enzymes in plasma at different measuring temperatures. Klin Lab 1992;38:555-61.
6. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 30-1.
7. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
8. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assay: mechanisms, detection and prevention. ClinChemLabMed 2007;45(9):1240-1243.



Vyrobeno:

DiaSys DiagnosticSystems GmbH
Alte Strasse 9, 65558 Holzheim,
Germany