

	Јавна здравствена установа Болница „Свети Врачеви“ Бијељина Српске војске 53			MI-10-051
Упутство за методу испитивања γ-глутамил трансферазе (GGT)				
Страна 1 од 7	Издање:	Важи од:	Одобрио	Копија број
	1	2024-12-24	mr ph Анђела Митровић руководилац Службе за хематолошку и биохемијску дијагностику	Е

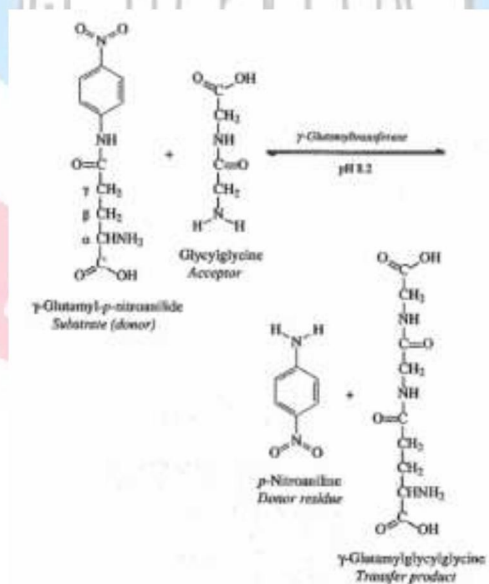
1. СВРХА ИСПИТИВАЊА

Ензим γ -глутамил трансфераза (GGT) катализује трансфер γ -глутамил групе са пептида (нпр.глутатион) на други пептид или аминокиселину. Заступљен је у реналним тубулима, јетри, панкреасу и билијарном тракту. У јетри се налази на мембранама ћелија лоцираним уз жучне каналиће. Највећа концентарација ензима је у бубрегу, док је серумска GGT хепатобилијарног поријекла, те представља сензитиван индикатор хепатобилијарног обољења, али је параметар мале специфичност, јер је повишен код болести јетре без обзира на узрок. Одређивање GGT представља додатно дијагностичко испитивање како би се поставила диференцијална дијагноза обољења хепатобилијарног тракта (укључујући јетру, жучне канале и жучну кесу), интрахепатичне или постхепатичне билијарне опструкције, као и акутног и хроничног панкреатитиса који настаје као последица постхепатичне билијарне опструкције. GGT је такође један од маркера хроничне алкохолне болести јетре. Утврђено је да су повишене вриједности GGT повезане са лошим исходом тумора дојке, јајника и других врста тумора; повећаним ризиком од кардиоваскуларних болести, možданог удара и повезаних смртних исхода; предиспозицијом за развој метаболичког синдрома и резистенције на инсулин код дијабетичара који болују од дијабетеса; хроничном болешћу бубрега; као и повећаним нивоом гвожђа код старијих особа. У складу са тим, повишене вредности GGT не треба сматрати високо специфичним маркером обољења хепатобилијарног тракта.

2. ПРИНЦИП И МЕТОД ПРОЦЕДУРЕ КОЈА СЕ КОРИСТИ ЗА ИСПИТИВАЊЕ

GGT катализује пренос гама-глутамил групе са донорског супстрата(L-гама-глутамил-3-карбокси-4-нитроанилид) на глицилглицин акцептор при чему настаје 3-карбокси-4-нитроанилин (такође познат као 5-амино-2- нитробензоат). Брзина промјене апсорбације на 416 nm је директно пропорционална GGT активности у узорку.

Методологија: L-гама-глутамил-3-карбокси-4-нитроанилид супстрат



3. КАРАКТЕРИСТИКЕ ПЕРФОРМАНСИ

3.1 Линеарност

GGT тест за узорке серума линеаран је у опсегу од 5 до 7782U/L.

3.2 Граница детекције (LOD- eng. Limit of Detection)

LOD је најмања количина анализата у узорку која се може одредити уз вјероватноћу од 95%. LODза GGT у серуму је 2U/L.

3.4 Граница квантификације (LOQ)

Граница квантификације (LOQ) је концентрација анализата која се може одредити уз KV=20 %. (%KV-коэффициент варијације) LOQ за GGT у серуму је 5 U/L.

3.5 Прецизност

Прецизност GGTтеста је ≤ 5 % укупног %KV за узорке серума. Репрезентативни резултати испитивања прецизности теста помоћу смјерница CLSI EP05-A3 приказани су у табели 1.

Табела 1. Резултати прецизности теста

Узорак	n	Средња вриједност (IU/mL)	Поновљивост		Унутар- лабораторијска прецизност (Укупна)	
			SD	%KV	SD	%KV
Контрола 1	120	38	0,6	1,5	0,7	1,9
Контрола 2	120	172	0,5	0,3	2,0	1,2
Узорак 1	117	6	0,4	6,9	0,5	8,0
Узорак 2	120	72	0,6	0,8	2,2	3,1
Узорак 3	119	1168	3,2	0,3	29,9	2,6
Узорак 4	119	4019	11,3	0,3	100,3	2,5
Узорак 5	115	7918	28,9	0,4	202,9	2,6

SD-стандардна девијација; %KV-коэффициент варијације

3.6. Поређење метода

Резултати добијени одређивањем GGТу серуму на ALINTYci анализатору упоређени су са резултатима добијеним на ARCHITECT ciSystem анализатору, према смерницама CLSI EP09-A3 помоћу Pasing-Bablokove методе регресије.

Болница Бијељина	Страна 3 од 7	Издање:	Важи од:	МИ-10-051
		1	2024-12-24	

Табела 2.Поређење метода Alinity ci GGTvs ARCHITECT ci GGT

врста узорка	јединица	N	коэффициент корелације	одсјечак на у ос	нагиб	интервал концентрације
серум	U/L	131	1	0,85	0,98	6-7463

4. ВРСТА УЗОРКА

4.1 Врста узорка

За тестирање се могу користити узорци серума и плазме.

4.2 Чување узорака

Анализа узорака се врши у што краћем временском периоду. Избјегава се вишекратно замрзавање и одмрзавање узорака. Ако се узорци не тестирају у року од 24 сата серум или плазма се одвајају од утруска или гела у епрувети.Стабилност узорака приказана је у табели 3.

Табела 3. Стабилност узорака

Температура	Максимално вријеме чувања
	серум/плазма
2 до 8 °C	7 дана
-20 °C и нижа т	3 мјесеца

4.3. Транспорт узорка

Узорке до мјеста обраде је потребно доставити у одговарајућем положају и на сталцима, при чему крв не смије да буде у додиру са чепом. Препоручено вријеме доставе до лабораторије је 2 сата од узимања узорка.

5. ПРИПРЕМА ПАЦИЈЕНАТА

Препорука је да се узорак крви узима наشته, ујутру најмање 12 сати након последњег оброка, као и да вријеме за вађења крви буде између 7 и 10 h. Дан прије вађења крви треба узимати уобичајне оброке, али не премасне. За вечеру конзумирати лакшу храну. Вечера треба да буде најкасније до 19 h. Послије 19 h може се пити течност, изузев алкохола, кафе и претјерано заслађених напитака. Дан прије узимање крви треба избјегавати интензивну физичка активност. На дан узимања крви, ујутру, не треба ништа јести, пити ни пушити. Уобичајну терапију узети након вађења крви уколико љекар није другачије одредио. Уколико неки лијекови значајно утичу на концентрацију глукозе у крви, треба ако је могуће, избјегавати њихово узимање најмање два дана прије узорковања крви, у консултацији са љекаром. Такође, потребно је избјегавати дијететске суплементе и биљне препарате, које љекар није одредио као обавезне, као и интензивну физичку активност, конзумирање алкохолних и енергетских пића, два до три дана прије узимања узорка крви.

6. ВРСТА ПОСУДЕ И АДТИВИ

За узорковање крви се користе пластичне епрувете, односно вакутајнери. За добијање серума користе се епрувете са активатором когулације (црвени чеп). Када се GGT одређује из плазме узорковање крви се врши у епрувету са литијум/натријум хепарином као антикоагулансом (сиви чеп).

Болница Бијељина	Страна 4 од 7	Издање:	Важи од:	МИ-10-051
		1	2024-12-24	

7. ОПРЕМА И РЕАГЕНСИ

Од опреме и регенаса за извођење овог теста потребне су: заштитне рукавице, заштитна одјећа, аутоматска пипета, наставци за пипету, реакционе чашице, реагенс сет и анализатор Alinity ci, Abbott. Сет реагенаса за одређивање GGTу течном облику, спреман за употребу, чије су компоненте приказане у табели 4.

Табела 4. Компоненте реагенаса

Реактивне компоненте		Концентрација
R1	глицинглицин	39,840 g/L
Конзерванс: ProClin 950 и натријум азид		
R2	GLUPA-C	
(глупа-карбоксилат моноамонијумова со) 5,000 g/L		
Конзерванс: ProClin 950 и натријум азид		

Додатни материјали за спровођење теста су: *Consolidated Chemistry Calibrator*, контролни материјал, физиолошки раствор.

8. УПРАВЉАЊЕ УСЛОВИМА СРЕДИНЕ И БЕЗБЈЕДНОШЋУ

Обезбјеђивање услова радне средине представља систем мјера и активности за остваривање услова које захтјевају испитивања која се спроводеи прописане су у упутству УП-10-138: *Обезбјеђење и праћење услова средине у процесу испитивања*. У просторији у којој је смјештен апарат, температура је прилагођена условима који су прописани од стране произвођача опреме и захтјевима испитивања. Температура се одржава на вриједностима до 25 °C, што се евидентира у обрасцу ОБ-10-221: *Евиденција температуре*.

Упутством УП-10-137: *Мјере заштите на раду у Служби за хематолошку и биохемијску дијагностику*, прописују се мјере заштите на раду.

Овај тест захтијева руковање хуманим узорцима. Сваки узорак крви или другог биолошког материјала који се достави у лабораторију је потенцијално инфективан, па је неопходно да се са овим материјалом крајње пажљиво рукује. То значи да приликом манипулације узорцима и при раду са апаратом треба користити рукавице за једнократну употребу, као и друга заштитна средства.

Подаци о идентификацији хемикалија, опасности, мјерама прве помоћи и осталим подацима везаним за безбједност примјенереагенаса GGT се налази у Безбједоносном листу везаним за Alinity c GGT Kit као и у упутству УП-10-166: *Упутство за безбједно руковање хемикалијама у Служби за хематолошку и биохемијску дијагностику*.

9. ПРОЦЕДУРЕ КАЛИБРАЦИЈЕ (МЕТРОЛОШКА СЛЕДЉИВОСТ)

GGТтест користи линеарни метод калибрације уз помоћ Consolidated Chemitstry Calibrator-а. Метод редукције линеарних података користи слијепу пробу реагенаса и један до шест калибратора за генерисање калибрационе криве од тачке до тачке. Нагиб се израчунава за сваки сегмент криве између нивоа калибратора.

10. КОРАЦИ ПРОЦЕДУРЕ

1. Провјерава се доступност свих потребних реагенаса за извођење теста.
2. Реагенс сет се поставља у апарат Alinity ci.

Болница Бијељина	Страна 5 од 7	Издање:	Важи од:	МИ-10-051
		1	2024-12-24	

- Прије анализе узорака, спроводи се интерна контрола квалитета и по потреби калибрација.
- Узорци се стављају у епрувете или чашице са бар кодовима пацијената на носаче, сталке (*carrier*).
- Након постављања узорака на транспортни модул врши се њихова идентификација скенирањем бар кода, након чега се врше аналитички процеси испитивања узорка.
- Принцип рада се заснива на фотометријској методи.

11. ПРОЦЕДУРЕ КОНТРОЛЕ КВАЛИТЕТА

Контрола квалитета спроводи се примјеном контролних материјала које препоручује произвођач, а то су *TechnopathMultichemSPlus* ниво 1, *TechnopathMultichemSPlus* ниво 2 и *TechnopathMultichemSPlus* ниво 3. Интерна контрола квалитета се спроводи континуирано, сваког дана, прије почетка спровођења рутинских анализа. Такође, контрола квалитета се спроводи при промјени серије реагенса или калибратора (лот). Резултати статистичке обраде при интерној провјери аутоматски се приказују на контролној карти која се креира за сваки параметар посебно, чиме се оцјењује значајност разлике између вриједности која се добија анализирањем контролног материјала и очекиване вриједности за тај материјал. Ако је вриједност контролног узорака унутар двије стандардне девијације метода је под контролом и резултати пацијената се могу издати.

12. ИНТЕРФЕРЕНЦЕ (ЛИПЕМИЈА, ХЕМОЛИЗА, БИЛИРУБИНЕМИЈА, ЛИЈЕКОВИ) И УНАКРСНЕ РЕАКЦИЈЕ

Критеријум: прихватљиви критеријум за интерференцију износи $\pm 10\%$ одступања од циљане вриједности.

Хемолиза: постоје значајне интерференције за одређивање GGT при концентрацији хемоглобина од 500 mg/dL

13. ПРИНЦИПИ ПРОЦЕДУРЕ ЗА ИЗРАЧУНАВАЊЕ РЕЗУЛТАТА, А КАДА ЈЕ ТО РЕЛЕВАНТНО И МЈЕРНА НЕСИГУРНОСТ ИЗМЈЕРЕНИХ КВАНТИТАТИВНИХ ВРИЈЕДНОСТИ

Принцип одређивања и израчунавања концентрације GGT заснива се на фотометријској методи. Фотометријска технологија је мјерење количине свјетлости коју узорак апсорбује. Свјетлосни зрак пролази кроз узорак и мјери се интензитет свјетлости која доспјева до детектора. Интензитет апсорбоване свјетлости према Ламбер-Беровом закону је пропорционалан концентрације анализата. На основу калибрационе криве које се генерише тако што анализатор мјери апсорбанцију калибратора и апсорбанције анализата, одређује се концентрација, односно активност ензима. Апсорбанција раствора се мјења током реакције. До мјерења долази када реактант достигне стабилну брзину (тестови брзине).

Мјерна несигурност за GGT је $\pm 0,34\%$.

14. БИОЛОШКИ РЕФЕРЕНТНИ ИНТЕРВАЛИ И ВРИЈЕДНОСТИ КЛИНИЧКОГ ОДЛУЧИВАЊА

Референтни интервал GGT за у серуму/плазми наташте, приказан је у табели 5:

Болница Бијељина	Страна 6 од 7	Издање:	Важи од:	МИ-10-051
		1	2024-12-24	

Табела 5. Референтни интервал

Стросна доб	Вриједност (U/L)	
	Пол	
	М	Ж
0-6 мј.	12-122	15-132
5 мј.-1 год	1-39	1-39
1 год.-12 год.	3-22	4-22
12 год.-18 год.	2-42	4-24
≥19 год	3-55	3-38

15. ИНТЕРВАЛ ИЗВЈЕШТАВАЊА О РЕЗУЛТАТИМА ИСПИТИВАЊА

Резултати мјерења GGT су у широком распону вриједности и сходно да је линеарност теста у опсегу од 5 до 7782 U/L, овај распон вриједности представља интервал извјештавања.

16. УПУТСТВА ЗА ОДРЕЂИВАЊА КВАНТИТАТИВНИХ РЕЗУЛТАТА КАДА РЕЗУЛТАТ НИЈЕ У ОКВИРУ ИНТЕРВАЛА МЈЕРЕЊА

Узорци у којима је вриједност GGT виша од 7782 U/L, означавају се са „>7782 U/L“ и разблаживање за овај тест није испитано.

17. АЛАРМАНТНЕ/КРИТИЧНЕ ВРИЈЕДНОСТИ, КАДА ЈЕ ОДГОВАРАЈУЋЕ

Не постоје алармантне вриједности за GGT.

18. КЛИНИЧКО ТУМАЧЕЊЕ ЛАБОРАТОРИЈЕ

За постављање дијагнозе и праћење тока болести, потребно је узети у обзир карактеристике пацијента, тренутну клиничку слику, ранија и тренутна обољења или патолошка стања, терапију коју пацијент прима и др., како би се лабораторијски налаз исправно интерпретирао.

Повишене вриједности

Велико повећање активности ензима јавља се код инта хепатичне и пост хепатичне билијарне опструкције (5-30 пута од горње референтне вриједности-ГРВ), затим заступљено је код пацијената са примарним и секундарним неоплазмама јетре; умјерено повећање код инфективног хепатитиса (2-5 пута); мало повећање код масне јетре; пролазно повећање код интоксикације лијековима. У акутном и хроничном панкреатитису и код неких панкреасних малигнитета (посебно повезаних са хепатобилијарном опструкцијом) ензимске активности су повећане 5 до 15 пута изнад ГРВ. Повишене вриједности се могу наћи код алкохолног хепатитиса и код тешких облика алкохолизма, те код узимања антиконвулзивних лијекова и код инфаркта. Код акутног инфаркта миокарда GGT активност је обично нормална. Ако дође до пораста, (достиге максималну вриједност у наредна 4 дана) то указује на оштећење јетре као последицу срчане инсуфицијенције. Према најновијим истраживањима GGT је независни прогностички фактор кардиоваскуларног морталитета и морбидитета.

20. ПОТЕНЦИЈАЛНИ ИЗВОРИ ВАРИЈАЦИЈА

Резултате треба користити заједно са другим подацима, као што су симптоми, резултати других тестова и клиничких налаза.

GGT тест може да покаже позитивну и негативну интерференцију са хемоглобином. Није примјећена значајна интерференција (унутар $\pm 10\%$) код узорака који садрже до 250 mg/dL хемоглобина. Постоји могућност потенцијалне интерференције са парапротеинима, нарочито код пацијената са IgM гамапатијом.

Болница Бијељина	Страна 7 од 7	Издање:	Важи од:	МИ-10-051
		1	2024-12-24	

21. РЕФЕРЕНЦЕ

1. Gamma-Glutamyl Transferase2-Упутство произвођача за одређивање γ -глутамил трансфераза на AlinityciSystem анализаторима-преведено на српски језик. 2021.
2. Мајкић-Синг Н. Клиничка Ензимологија. Издавач: АИД Практикум, 1993 (Суботица: Бирографика) 878 стр., ISBN 86-82093-06-5.
3. Мајкић-Синг Н. (2006). Медицинска биохемија, друго допуњено издање. Друштво медицинскихбиохемичара Србије, Београд.
4. Спасић С., Јелић Ивановић З., Спасојевић-Калимановска В. (2005). Практикум за вјежбе из медицинске биохемије, за студенте Фармацеутског факултета. Фармацеутски факултет, Београд.
5. Хоновић, Л. (2013). Зашто нам је важна и како проводити квалитетну пријеаналитичку фазу лабораторијске дијагностике?. Гласник пулске болнице, 10 (10), 21-25. Преузето
6. Architect System Operations Manual. Abbott Laboratories, 2013.
7. Ћорић, Ј. (2014). Контрола квалитета рада у лабораторијској медицини. Факултет здравствених студија, Сарајево.

