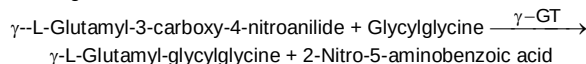


Quantitative determination of gamma-glutamyl transferase (γ-GT) IVD

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

Gamma-glutamyl transferase (γ-GT) catalyses the transfer of γ-glutamyl group from γ-glutamyl-p-nitroanilide to acceptor glycylglycine, according to the following reaction:



The rate of 2-nitro-5-aminobenzoic acid formation, measured photometrically, is proportional to the catalytic concentration of γ-GT present in the sample^{1,2}.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Gamma-glutamyl transferase (γ-GT) is a cellular enzyme with wide tissue distribution in the body, primarily in the kidney, pancreas, liver and prostate.

Measurements of gamma-glutamyl transferase (γ-GT) activity are used in the diagnosis and treatment of hepatobiliary diseases such as biliary obstruction, cirrhosis or liver tumours^{1,2,5,6}. Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

R 1	TRIS pH 8.6	100 mmol/L
Buffer	Glycylglycine	100 mmol/L
R 2	L-γ-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide	3 mmol/L
Substrate		

PREPARATION

Working reagent (WR)

Mix: 4 vol. (R1) Buffer + 1 vol. (R2) Substrate

Stability: 21 days at 2-8°C or 5 days at room temperature (15-25°C).

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date.

Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 405 nm ≥ 1.20 .

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 405 nm.
- Thermostatic bath at 25°C, 30°C or 37°C ($\pm 0.1^\circ\text{C}$)
- Matched cuvettes 1.0 cm light path.
- General laboratory equipment.

SAMPLES

Serum¹. γ-GT is stable for at least 3 days at 2-8°C, 8 hours at 15-25°C and 1 month at -20°C.

PROCEDURE

- Assay conditions:
Wavelength: 405 nm
Cuvette: 1 cm light path
Constant temperature 25°C / 30°C / 37°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water or air.
- Pipette into a cuvette^(note 1):

WR (mL)	1.0
Sample (μL)	100

- Mix, wait for 1 minute.
- Read initial absorbance (A) of the sample, start the stopwatch and read absorbances at 1 minute intervals thereafter for 3 minutes.
- Calculate the difference between absorbances and the average absorbance differences per minute ($\Delta A/\text{min}$).

CALCULATIONS

$$\Delta A/\text{min} \times 1190 = \text{U/L of } \gamma\text{-GT}$$

Units: One international unit (IU) is the amount of enzyme that transforms 1 μmol of substrate per minute, in standard conditions. The concentration is expressed in units per litre of sample (U/L).

Temperature conversion factors

To correct results to other temperatures multiply by:

Assay temperature	Conversion factor to		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1.00	1.37	1.79
30°C	0.73	1.00	1.30
37°C	0.56	0.77	1.00

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINTROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and technique for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES¹

	25°C	30°C	37°C
Women	4-18 U/L	5-25 U/L	7-32 U/L
Men	6-28 U/L	8-38 U/L	11-50 U/L

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: From detection limit of 2 U/L to linearity limit of 250 U/L.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/2 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 2.

Precision:

	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
Mean (U/L)	38.0	188	37.5	190
SD	0.79	2.57	0.96	2.61
CV (%)	2.09	1.36	2.56	1.37

Sensitivity: 1 U/L = 0.0074 $\Delta A/\text{min}$.

Accuracy: Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).

The results obtained using 100 samples were the following:

Correlation coefficient (r): 0.9960.

Regression equation: $y = 0.9897x - 0.0879$.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES

Plasma should not be used, anticoagulants inhibit the enzyme. Gross haemolysis interferes in the assay¹.

A list of drugs and other interfering substances with γ-GT determination has been reported by Young et al.^{3,4}.

NOTES

SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.

BIBLIOGRAPHY

- Gendler S. γ-GT. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1120-1123.
- Persijn J P et al. J Clin Chem Clin Biochem 1976; (14) 9: 421-427.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PACKAGING

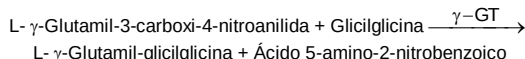
Ref: 41290	R 1	60 mL
	R 2	15 mL
Ref: 41292	R 1	240 mL
	R 2	60 mL
Ref: 41293	R 1	480 mL
	R 2	120 mL

Determinación cuantitativa de gamma-glutamyl transferasa (γ-GT) IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La γ-glutamyl transferasa (γ-GT) cataliza la transferencia de un grupo γ-glutamilo de la γ-glutamyl-p-nitroanilida al dipéptido aceptor glicilglicina, según la siguiente reacción:



La velocidad de formación del ácido 5-amino-2-nitrobenzoico, determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de γ-glutamyl transferasa (γ-GT) en la muestra ensayada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La γ-glutamyl transferasa (γ-GT) es una enzima que se encuentra presente en casi todos los tejidos del organismo, siendo particularmente alta en hígado, páncreas, riñón y próstata.

La determinación de los niveles de γ-glutamyl transferasa (γ-GT) es el método más útil para el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades hepatobiliares como obstrucción hepática, cirrosis o tumores hepáticos^{1,2,5,6}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1 Tampón	TRIS pH 8,6 Glicilglicina	100 mmol/L 100 mmol/L
R 2 Substrato	L-γ-glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida	3 mmol/L

PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT)

Mezclar:

1 vol. de (R2) Substrato + 4 vol. (R1) Tampón.

Estabilidad: 21 días a 2-8°C o 5 días a temperatura ambiente.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias del Blanco a 405 ≥ 1,20.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 405 nm.
- Baño termostatable a 25°C, 30°C ó 37°C (± 0,1°C)
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero¹. γ-GT es estable hasta 3 días a 2-8°C, 8 horas a 15-25°C y 1 mes a -20°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda:405 nm
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura constante25°C / 30°C / 37°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.
- Pipetear en una cubeta:

RT (mL)	1,0
Muestra (μL)	100

- Mezclar, incubar 1 minuto.
- Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronometro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos.
- Calcular el promedio del incremento de absorbancia por minuto (ΔA/min).

CÁLCULOS

ΔA/min x 1190 = U/L de γ-GT

Unidades: La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1 μmol de sustrato por minuto, en condiciones estándar. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).

Factores de conversión de temperaturas

Los resultados pueden transformarse a otras temperaturas multiplicando por:

Temperatura de medición	Factor para convertir a		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,37	1,79
30°C	0,73	1,00	1,30
37°C	0,56	0,77	1,00

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA¹

	25°C	30°C	37°C
Mujeres	4-18 U/L	5-25 U/L	7-32 U/L
Hombres	6-28 U/L	8-38 U/L	11-50 U/L

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección 2 U/L hasta el límite de linealidad 250 U/L.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (U/L)	38,0	188	37,5	190
SD	0,79	2,57	0,96	2,61
CV (%)	2,09	1,36	2,56	1,37

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,0074 ΔA/min.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 100 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de regresión (r): 0.9960.

Ecuación de la recta de regresión: y= 0.9897x - 0.0879.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

No utilizar plasma. Los anticoagulantes inhiben al enzima. La hemólisis elevada interfiere en el ensayo¹. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la γ-GT^{3,4}.

NOTAS

SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- Gendler S. γ-GT. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1120-1123.
- Persijn J P et al. J Clin Chem Clin Biochem 1976; (14) 9: 421-427.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref: 41290	R 1	60 mL
	R 2	15 mL
Ref: 41292	R 1	240mL
	R 2	60 mL
Ref: 41293	R 1	480mL
	R 2	120 mL