

GAMMA - GT LÍQUIDA

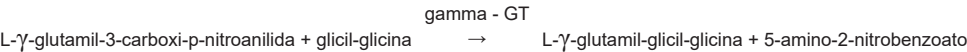
MÉTODO DE SZASZ MODIFICADO

Para la determinación “in vitro” de la gamma-GT en suero o plasma



PRINCIPIO

La γ -glutamyl transferasa sérica (γ -GT) transfiere el grupo glutamil al cosustrato glicil-glicina y en el proceso se libera 5-amino-2-nitrobenzoato. En condiciones óptimas de reacción la actividad enzimática es directamente proporcional a la cantidad de 5-amino-2-nitrobenzoato liberado, que se determina espectrofotométricamente.



UTILIDAD DIAGNÓSTICA

En el 90 % de las enfermedades hepáticas se detecta un aumento de la γ -GT. Los valores son moderados en cirrosis y mononucleosis infecciosa, mientras que los aumentos importantes se encuentran en enfermedad hepática obstructiva, colestasis intrahepática o cirrosis biliar primaria.

Una única prueba de laboratorio no permite establecer un diagnóstico. Los resultados se han de evaluar en el contexto de todos los datos clínicos y de laboratorio obtenidos.

REACTIVOS

- Kit 1 x 50 mL. Ref. 99 35 61.** Contiene:
A. 1 x 40 mL Disolución tampón
B. 1 x 10 mL Sustrato líquido
- Ref. 99 92 48
Ref. 99 38 43
- Kit 1 x 125 mL. Ref. 99 10 56.** Contiene:
A. 1 x 100 mL Disolución tampón
B. 1 x 25 mL Sustrato líquido
- Ref. 99 10 68
Ref. 99 10 81
- Kit 1 x 250 mL. Ref. 99 10 54.** Contiene:
A. 2 x 100 mL Disolución tampón
B. 1 x 50 mL Sustrato líquido
- Ref. 99 10 68
Ref. 99 10 82

PREPARACION DEL REACTIVO DE TRABAJO

Los reactivos A y B, están listos para su uso.
En caso de que se quiera trabajar como monorreactivo: mezclar las cantidades deseadas manteniendo la proporción de 4 partes de A (Disol. tampón) + 1 parte de B (Sustrato líquido).

COMPOSICIÓN DEL REACTIVO DE TRABAJO

Tampón Tris pH 8,4	90 mM
L-gamma-glutamyl-3-carboxi-p-nitroanilida	6 mM
Glicil-glicina	100 mM
Estabilizantes y conservantes	

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Los componentes del kit almacenados a 2-8°C, son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
Una vez mezclados los componentes A y B, la disolución monorreactiva es estable 5 semanas a 2-8° C y 3 semana a temperatura ambiente ($\leq 25^{\circ}\text{C}$), siempre protegido de la luz.

Indicaciones de alteración de los reactivos:

Presencia de turbidez o de partículas. Blanco del reactivo de trabajo $\geq 1,75$

MATERIAL NECESARIO NO SUMISTRADO

Material común de laboratorio.
Espectrofotómetro, analizador automático o fotómetro termostatzado a 37°C. Cubeta de 1cm de paso de luz.

PRECAUCIONES

Los reactivos contienen azida sódica al 0,09%, manipular con precaución.
Las indicaciones de seguridad se encuentran en la etiqueta de los productos. El calibrador debe considerarse como una muestra humana y por lo tanto potencialmente infeccioso. Utilizar protección adecuada. Se aconseja consultar la ficha de datos de seguridad antes de la manipulación del reactivo. La eliminación de residuos debe hacerse según la normativa local vigente.

MUESTRA

Suero o plasma. Utilizar muestras exentas de hemólisis.
La actividad gamma-GT-ásica es estable durante 10 días a 2-8°C.

CONTROL DE CALIDAD

Es recomendable la inclusión de sueros control, Seriscann Normal (Ref. 99 41 48) y Seriscann Anormal (Ref. 99 46 85) en cada proceso de medida para verificar los resultados. Se aconseja que cada laboratorio establezca su propio programa de control de calidad y los procedimientos de corrección de las desviaciones detectadas.

AUTOANALIZADORES

Adaptaciones a distintos analizadores automáticos están disponibles bajo demanda.

PROCEDIMIENTO

Llevar el reactivo de trabajo y el instrumento a la temperatura de trabajo (25°C, 30°C, 37°C).

Técnica monorreactiva	25°C/30°C/37°C
R. de trabajo	1,0 mL
Muestra	0,1 mL
Técnica birreactiva	25°C/30°C/37°C
Disol. enzimas (A)	1,0 mL
Muestra	0,1 mL
Mezclar e incubar aprox. 1 min.	
Sustrato (B)	0,25 mL

Mezclar y poner en marcha el cronómetro.
Transferir a la cubeta de lectura y leer las absorbancias después de 1, 2, 3 min.

Determinar la $\Delta\text{Abs}/\text{min}$ promedio de las lecturas.

Lectura

Longitud de onda: 405 nm
Blanco: Agua
Cubeta: termostatzada, 1 cm de paso de luz

CÁLCULOS

Se utiliza la fórmula indicada para obtener el factor para calcular las U/L:

$$\Delta\text{Abs}/\text{min} \times \frac{V_t \times 10^6}{\epsilon \times l \times V_s} = \text{U/L}$$

Donde:
Vt: Volumen total de la mezcla de reacción;
Vs: Volumen de muestra
l: Paso de luz de la cubeta
 ϵ : Coeficiente de extinción molar de 5-amino-2-nitrobenzoato a 405 nm: 9500

Para el cálculo de las U/L determinar la $\Delta\text{Abs}/\text{min}$ promedio y multiplicar por el factor:

Metódica monorreactivo	U/L = ($\Delta\text{Abs}_{405\text{ nm}} / \text{min.}$) x 1158
Metódica birreactivo	U/L = ($\Delta\text{Abs}_{405\text{ nm}} / \text{min.}$) x 1420

VALORES DE REFERENCIA

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

Los valores indicados son a título orientativo. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

PRESTACIONES. CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Las características de funcionamiento del producto dependen tanto del reactivo como del sistema de lectura manual o automático empleados.
Los siguientes datos se han obtenido de forma manual.

Sensibilidad, como límite de detección: 4 U/L
Linealidad: Hasta 600 U/L. Con actividades superiores se aconseja diluir la muestra 1/10 con salina (NaCl 0,9%) y repetir el ensayo. Multiplicar por 10.
Exactitud, como % de recuperación: 98,4%
Precisión en la serie, como Coeficiente de Variación: 1,77%
Precisión entre series, como Coeficiente de Variación: 2,29%
Veracidad: Los resultados obtenidos con el reactivo no presentan diferencias significativas al compararlo con el reactivo considerado de referencia.

Los datos detallados del estudio de las prestaciones del reactivo están disponibles bajo demanda.

INTERFERENCIAS

Sueros hemolizados interfieren en el ensayo. No pueden utilizarse anticoagulantes tipo EDTA, oxalato o fluoruro, porque inhiben la actividad enzimática.

BIBLIOGRAFÍA

Szasz, G., (1969) Clin. Chem., 15, 124 - 136.
Tietz, NW., Textbook of Clinical Chemistry 6th Edition, W.B. Saunders, Philadelphia (2018).



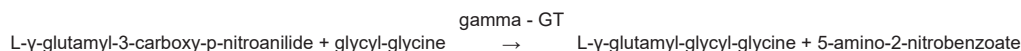
GAMMA - GT LIQUID

SZASZ MODIFIED METHOD

For "in vitro" determination of gamma-GT in serum or plasma

PRINCIPLE

Serum γ -glutamyl transferase (γ -GT) transfer the glutamyl group to cosubstrate glycyl-glycine producing 5-amino-2-nitrobenzoate. In optimum conditions enzymatic activity is directly related to amino-2-nitrobenzoate produced that is measured by spectrophotometry.



DIAGNOSTIC USE

In 90% of liver diseases there is a rise of γ -GT levels. The values are moderate in cirrhosis and infectious mononucleosis, while significant increases were found in obstructive liver disease, intrahepatic cholestasis or primary biliary cirrhosis.

Single test result could not be used to make a clinical diagnosis. It should integrate clinical and laboratory data.

REAGENTS

Kit 1 x 50 mL. Ref. 99 35 61. Contents:

- A. 1 x 40 mL Buffer solution Ref. 99 92 48
B. 1 x 10 mL Liquid substrate Ref. 99 38 43

Kit 1 x 125 mL. Ref. 99 10 56. Contents:

- A. 1 x 100 mL Buffer solution Ref. 99 10 68
B. 1 x 25 mL Liquid substrate Ref. 99 10 81

Kit 1 x 250 mL. Ref. 99 10 54. Contents:

- A. 2 x 100 mL Buffer solution. Ref. 99 10 68
B. 1 x 50 mL Liquid substrate Ref. 99 10 82

WORKING REAGENT PREPARATION

Reagents A and B are ready-to-use. If a monoreagent procedure is preferred, then the reagents must be mixed in the ratio: 4 parts of A (Buffer solution) + 1 part of B (Liquid substrate).

WORKING REAGENT COMPOSITION

The concentrations in the reagent solution are:

Tris buffer pH 8.4	90 mM
L-gamma-glutamyl-3-carboxy-p-nitroanilide	6 mM
Glycyl-glycine	100 mM
Stabilizers and preservatives	

STORAGE AND STABILITY

The components of the kit, stored at 2-8°C, will remain stable until the expiration date stated on the label.

The monoreagent is stable 5 weeks at 2-8°C and 3 weeks at room temperature ($\leq 25^\circ\text{C}$), when protected from the sunlight.

Signs of reagent deterioration:

Presence of particles or turbidity in the reagent. Working reagent blank ≥ 1.75 .

ADDITIONAL EQUIPMENT

General laboratory equipment.

Spectrophotometer or photometer thermostatable at 37°C. Cuvette: 1 cm light-path.

CAUTION

The reagents contain sodium azide at 0.09%. Handle with care.

The safety statements are on the label. It is advisable to look at the SDS before using the reagent. The calibrator must be considered as a human sample, and, thus, potentially infectious. Use adequate protection.

The disposal of the residues has to be made according to local regulations.

SAMPLE

Serum or plasma. Samples free from hemolysis should be used. The gamma-GT-asic activity will remain stable for 10 days if the sample is stored at 2-8°C.

QUALITY CONTROL

Control serum, Seriscann Normal (Ref. 99 41 48) and Seriscann Anormal (Ref. 99 46 85) should be included in each test series. Each particular laboratory should establish its own control program.

AUTOANALYZERS

Adaptations to different autoanalyzers are available on request.

PROCEDURE

Bring the working reagent and the analyzer to the working temperature (25°C, 30°C, 37°C).

Monoreagent technique	25°C/30°C/37°C
Working reagent	1.0 mL
Sample	0.1 mL
Bireagent technique	25°C/30°C/37°C
Buffer sol.(A)	1.0 mL
Sample	0.1 mL
Mix, incubate for approx. 1 minute	
Substrate (B)	0.25 mL

Mix, read the absorbance after 1 min. and start the stopwatch. Read again the absorbance after 1, 2 and 3 min.

Determine the mean of Abs/min of different lectures.

Reading

Wavelength: 405 nm

Blank: Water

Cuvette: Thermostated 1 cm light path

CALCULATIONS

The formula indicated is used to obtain the factor to calculate the U/L

$$\Delta\text{Abs}/\text{min} \times \frac{V_t \times 10^6}{\epsilon \times l \times V_s} = \text{U/L}$$

V_t : Total reaction volume

V_s : Sample volume

l : Cuvette light path

ϵ : Extinction coefficient of 5-amino-2-nitrobenzoate at 405 nm: 9500

For the calculation of the U/L determine the average Abs/min and multiply by the factor:

Monoreagent method	U/L = $(\Delta\text{Abs}_{405\text{ nm}} / \text{min.}) \times 1158$
Bireagent method	U/L = $(\Delta\text{Abs}_{405\text{ nm}} / \text{min.}) \times 1420$

REFERENCE VALUES

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

The stated values are for guidance. Each particular laboratory should establish its own normal range, using its own instrumentation, blood collection methods and test procedures.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The performance characteristics depend on the method used. It is recommended to calculate these data for each particular test protocol. These results have been obtained using a manual method.

Sensitivity, as detection limit: 4 U/mL

Linearity: Up to 600 U/L. For higher values, it is recommended to dilute the sample 1/10 in saline (NaCl 0.9%) and assay once again. Multiply the final result by 10.

Accuracy: 98.4%

Repetitivity, as Coefficient of Variation: 1.77%

Reproducibility, as Coefficient of Variation: 2.29%

Trueness: Results obtained with this reagent did not show systematic differences when compared with reference reagent.

Details of the performance studies are available on request.

INTERFERENCES

Hemolyzed samples will give false results. Fluoride, EDTA, citrate and oxalate inhibit the enzyme activity.

REFERENCES

Szasz, G., (1969) Clin. Chem., 15, 124 - 136.

Tietz, NW., Textbook of Clinical Chemistry 6th Edition, W.B. Saunders, Philadelphia (2018).

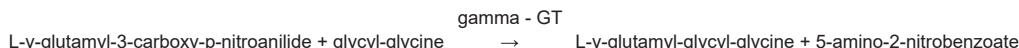
GAMMA-GT LIQUIDE

MÉTHODE DE SZASZ MODIFIÉE

Pour la détermination in vitro de la gamma-GT dans le sérum ou le plasma

PRINCIPE

La gamma-glutamyltransférase sérique transfère le groupe glutamyl au co-substrat glycyl-glycine et le 5-amino-2-nitrobenzoate est libérée dans le processus. Dans de conditions optimales de réaction l'activité enzymatique est directement proportionnelle à la quantité de 5-amino-2-nitrobenzoate libéré, qui est déterminé par spectrophotométrie.



UTILITÉ DE DIAGNOSTIC

Une activité accrue de l'enzyme est détectée dans 90% des maladies hépatiques. Les valeurs sont modérées dans cirrhose et mononucléose infectieuse. L'augmentation de l'activité est élevée dans le cas de maladie obstructive du foie, cholestase intra-hépatique ou cirrhose biliaire primaire.

Un test de laboratoire unique ne peut pas établir un diagnostic. Les résultats doivent être évalués dans le contexte de toutes les données cliniques et de laboratoire obtenus.

RÉACTIFS

Kit 1 x 50 mL. Réf. 99 35 61. Contenu:

A. 1 x 40 mL Solution tampon
B. 1 x 10 mL Substrat liquide
Réf. 99 92 48
Réf. 99 38 43

Kit 1 x 125 mL. Réf. 99 10 56. Contenu:

A. 1 x 100 mL Solution tampon
B. 1 x 25 mL Substrat liquide
Réf. 99 10 68
Réf. 99 10 81

Kit 1 x 250 mL. Réf. 99 10 54. Contenu:

A. 2 x 100 mL Solution tampon
B. 1 x 50 mL Substrat liquide
Réf. 99 10 68
Réf. 99 10 82

PRÉPARATION DU RÉACTIF DE TRAVAIL

Les réactifs A et B sont prêts à l'emploi. En cas d'utilisation de la technique monoréactif: mélanger les quantités souhaitées, mais en maintenant la proportion 4 volumes de A (solution tampon) + 1 volume de B (substrat liquide).

COMPOSITION DU RÉACTIF DE TRAVAIL

Les concentrations dans la solution réactive sont les suivantes:

Tampon Tris pH 8,4 90 mM
L-gamma-glutamyl-3-carboxy-p-nitroanilide 6 mM
Glycylglycine 100 mM
Stabilisants et conservateurs

CONSERVATION ET STABILITÉ

Conservés entre 2-8°C, les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Une fois les composants A et B mélangés, cette solution monoréactive est stable pendant 5 semaines entre 2-8°C et 3 semaines à température ambiante ($\leq 25^\circ\text{C}$), toujours à l'abri de la lumière.

Indications d'altération du réactif:

Présence de particules ou de turbidité. Blanc du réactif de travail $\geq 1,75$

MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

Matériel courant de laboratoire.

Spectrophotomètre, analyseur automatique ou photomètre thermostaté à 37 °C. Récipient de 1 cm de trajet optique.

PRÉCAUTIONS

Les réactifs contiennent de l'azide de sodium à 0,09 %. Manipuler avec précaution. Les indications de sécurité figurent sur l'étiquette des produits. Le calibrateur doit être considéré comme un échantillon humain et donc potentiellement infectieux. Utiliser des protections adéquates. Il est conseillé de consulter la fiche de données de sécurité avant de manipuler le réactif. L'élimination des déchets doit être réalisée conformément aux normes en vigueur.

ÉCHANTILLON

Sérum ou plasma. Utiliser des échantillons exempts d'hémolyse. L'activité gamma-GT-ase de l'échantillon est stable pendant 10 jours entre 2-8°C.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Nous recommandons l'inclusion de sérums de contrôle Seriscann normale (Réf. 99 41 48) et Seriscann anormale (Réf. 99 46 85) dans chaque processus de mesure pour vérifier les résultats.

Nous suggérons que chaque laboratoire d'établir son propre programme et les procédures de correction des écarts dans les mesures de contrôle qualité.

AUTOANALYSEURS

Des adaptations aux différents analyseurs automatiques sont disponibles sur demande.

TECHNIQUE

Incuber le réactif et l'analyseur à la température de travail. (25°C, 30°C or 37°C).

Technique monoréactif	25°C/30°C/37°C
Réactif de travail	1,0 mL
Échantillon	0,1 mL
Technique biréactif	25°C/30°C/37°C
Solution tampon (A)	1,0 mL
Échantillon	0,1 mL
Mélanger et incuber pendant environ une minute	
Substrat (B)	0,25 mL

Mélanger puis mettre en marche le chronomètre.

Transférer à la cuvette de lecture puis lire les absorbances toutes les minutes pendant 3 minutes.

Déterminer la valeur moyenne de $\Delta\text{Abs}/\text{min}$.

Lecture

Longueur d'onde: 405 nm

Blanc: eau

Cuvette: thermostatée de 1 cm de trajet optique

CALCULS

En utilisant la formule indiquée pour obtenir le facteur de calcul des U/L:

$$\Delta\text{Abs}/\text{min} \times \frac{V_t \times 10^5}{\epsilon \times l \times V_s} = \text{U/L}$$

V_t : Volume total;

V_s : Volume de l'échantillon;

l : Trajet optique.

ϵ : Coefficient d'extinction de 5-amino-2-nitrobenzoate à 405 nm: 9500

Calculer la valeur $\Delta\text{Abs}/\text{min}$ obtenue à chaque lecture ainsi que la valeur moyenne. Les U/L sont calculées à partir de:

Méthode monoréactif $\text{U/L} = (\Delta\text{Abs}_{405\text{ nm}} / \text{min.}) \times 1158$

Méthode biréactif $\text{U/L} = (\Delta\text{Abs}_{405\text{ nm}} / \text{min.}) \times 1420$

VALEURS DE RÉFÉRENCE

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

Les valeurs données sont indicatives. Il est recommandé que chaque laboratoire établisse ses propres valeurs de référence.

PERFORMANCE. CARACTÉRISTIQUES DE FONCTIONNEMENT

Le fonctionnement du produit dépend tant du réactif que du système de lecture manuel ou automatique utilisé. Les résultats suivants ont été obtenus avec une méthode manuelle.

Sensibilité comme limite de détection: 4 U/L

Linéarité: L'essai est linéaire jusqu'à 600 U/L. Pour des concentrations plus élevées,

diluer l'échantillon 1/10 avec une solution saline (NaCl 0,9%). Multipliez le résultat par 10.

Exactitude: le pourcentage de récupération est de 98,4%

Coefficient de variation dans la série: 1,77%

Coefficient de variation entre les séries: 2,29%

Justesse. Les résultats obtenus avec le réactif ne sont pas significativement différents par rapport au réactif de référence considéré.

L'étude détaillée de la performance du réactif est disponible sur demande.

INTERFÉRENCES

Les sérums hémolysés interfèrent avec l'essai. Ne pas utiliser anticoagulants de type EDTA, oxalate ou fluorure, car ils inhibent l'activité enzymatique.

BIBLIOGRAPHIE

Szasz, G., (1969) Clin. Chem., 15, 124 - 136.

Tietz, NW., Textbook of Clinical Chemistry 6th Edition, W.B. Saunders, Philadelphia (2018).