

GGT

γ-GLUTAMYLTRANSFERASE



Order information:

Catalog No.	Contents			
2023	R1	1 x	65 ml	R2 20 x for 3 ml
2010	R1	1 x	110 ml	R2 10 x for 10 ml

Intended use:

In vitro test for the quantitative determination of gamma-glutamyltransferase (GGT) in human serum and plasma.

Summary:

Gamma-glutamyltransferase is used in the diagnosis and monitoring of hepatobiliary diseases. The enzymatic activity of GGT is often the only parameter with increased values when testing for such diseases, and is one of the most sensitive indicators. Gamma-glutamyltransferase is also a sensitive screening test for occult alcoholism. Elevated GGT activities are found in the serum of patients requiring long-term medication with phenobarbital and phenytoin.

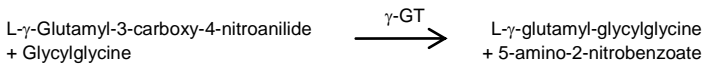
In 1969, Szasz published the first kinetic procedure for GGT in serum using γ-glutamyl-p-nitroanilide as substrate and glycylglycine as acceptor. In order to circumvent the poor solubility of γ-glutamyl-p-nitroanilide, Persijn and van der Slik investigated various derivatives of the compound with respect to solubility. The substrate L-γ-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide is superior in terms of stability and solubility.

The assay described below uses the water-soluble substrate L-γ-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide. The results correlate with those derived using the original substrate.

Test principle:

Enzymatic colorimetric assay

- Sample and addition of R1 (Buffer/Glycylglycine)
- Addition of R2 (substrate) and start of reaction



Gamma-glutamyltransferase transfers the γ-glutamyl group of L-γ-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide to glycylglycine. The amount of 5-amino-2-nitrobenzoate liberated is proportional to the GGT activity and can be determined photometrically.

Reagent concentration:

R1:		
Tris Puffer pH 8.25		100mmol/l
R2:		
L-γ-Glutamyl-3-carboxy-4-Nitroanilid		2,9mmol/l
Glycylglycine		100mmol/l

Preparation and stability:

Dilute substrate reagent /R2 with the corresponding volume of buffer /R1. Gently swirl until completely dissolved.
DO NOT SHAKE!

This Working reagent is stable:

3 days	at +20°C to + 25°C
15 days	at + 2°C to + 8°C

Specimen:

Collect serum using standard sampling tubes.

Stability:	7 days	at +20°C to +25°C
	7 days	at + 2°C to + 8°C

Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

Notes:

For in vitro diagnostic use.

The material safety data sheet contains further safety-related information. It is available for download from our homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com>. Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

Limitations - interference:

Criterion: Recovery within ±10% of initial values

Icterus: No significant interference up to an index I of 10 (approximate bilirubin concentration 10 mg/dl)

Hemolysis: No significant interference up to an Index H of 330 (approximate hemoglobin concentration: 330 mg/dl).

Lipemia (Intralipid): No significant interference up to an index L of 1330 (approximate triglycerides concentration: 2660 mg/dl).

There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.

The effect of drugs or their metabolic products on the test is not known in all cases. In case of doubt it is recommended to repeat the test after the medication has been discontinued. However, the medication may only be discontinued according to instructions of the attending physician.

Analytical sensitivity (lower detection limit)

Detection limit: 4 U/l (0.05 μkat/l)

The lower detection limit represents the lowest measurable GGT activity that can be distinguished from zero.

Testing procedure:

Applications for automated systems are available on request.

Materials provided

- Working solutions as described above

Additional materials required

- Calibrators and controls as indicated below

Manual Testing procedure:

Wavelength:	Hg 405nm (400-420nm)
Temperature:	+25 / +30 / +37°C
Cuvette:	1 cm light path
Zero adjustment:	air or Aqua dest.

Working reagent Sample	Makro	Semi-Micro	Micro
	2500 μL	1000 μL	500 μL
	250 μl	100 μL	50 μL

Mix, read initial absorbance and start stopwatch simultaneously. Read again after exactly 1, 2 and 3 minutes and calculate ΔA/min.

Calculation:

Standardization according to Szasz 1974

	Makro	Semi-Micro	Micro
Hg 405nm ΔA/min. x	1158	1158	1158

Measuring /reportable range:

4 - 232 U/l (0.05 – 3.87 μkat/l)

In case of higher results, dilute sample (e.g. 1+9) with NaCl solution and repeat the test. Multiply the result by the dilution factor (e.g. 10).

Normal values 37°C:

	Szasz 1974	IFCC	
Newborn	< 278	< 292	U/L
Children, 1 day	< 163	< 171	U/L
Children, 2-5 days	< 200	< 210	U/L
Children, 6 days-6 months	< 220	< 231	U/L
Children, 7-12 months	< 37	< 39	U/L
Children, 1-3 years	< 19	< 20	U/L
Children, 4-6 years	< 25	< 26	U/L
Children, 7-12 years	< 18	< 19	U/L
Children, 13-17 years (w)	< 36	< 38	U/L
Children, 13-17 years (m)	< 49	< 51,5	U/L
Men	< 61	< 66	U/L
Women	< 36	< 40	U/L

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference range. For diagnostic purposes the GGT results should always be assayed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

Imprecision:

Reproducibility was determined using controls. The following results were obtained:

Sample	Within run		
	Mean U/l	SD U/l	CV %
Control Serum 1	41.7	0.64	1.54
Control Serum 2	85.5	0.59	0.69
Control Serum 3	173	1.12	0.65

Sample	Between day		
	Mean U/l	SD U/l	CV %
Control Serum 1	40.5	0.75	1.85
Control Serum 2	104	2.08	2.01
Control Serum 3	175	2.98	1.71

Method comparison:

A comparison of the Analyticon Fluitest® GGT (y) with a commercial obtainable assay (x) gave with samples the following result:

$$y = 0.979 x + 1.863; \quad r = 1.000$$

Quality Control:

Human Control Serum

Contronorm [®] Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Contropath [®] Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320

The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

Calibration

S1: 0.9% NaCl

S2: Bio Cal[®] E 10 x 3 ml #1430**Disposal:**

Please note the legal regulations.

Literature:

1. Bablock W. et al A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790
2. Glick M.R., Ryder K.W., Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation, Clin Chem 1986;32:470-474
3. Passing H., Bablock W., A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from two Different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709-720
4. Persijn JP, van der Silk W. A new method for the determination of gamma-glutamyltransferase J Clin Chem Biochem 1976;4:421
5. Shaw L M .Keeping pace with a popular enzyme GGT. Diagnostic Medicine 1982; may/June1-8
6. Szasz G.. A kinetic photometric method for serum γ -glutamyl-transferase J. Clin Chem 1969;15:124-136
7. Szasz G.. Methods of Enzymatic Analysis 2nd English ed New York: Academic Press Inc. 1974:717
8. Szasz G., Persijn J.P. et al. Z Klin Chem Klin Biochem 1974;12:228
9. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 4th ed. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft; 1992
10. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests 3rd ed. Philadelphia, Pa. W.B.Saunders Company. 1995:286
11. Zawta B. Klein G. Bablock W. Temperature Conversion in Clinical Enzymology Klin Lab 1994;40:33-42
12. Thomas L, Klein G. Neue vorläufige Normalbereiche für neun Serumenzyme. Deutsches Ärzteblatt 2006;103;Heft 7.

Bestellinformation:

Katalog-Nr.	Inhalt
2023	R1 1 x 65 ml R2 20 x für 3 ml
2010	R1 1 x 110 ml R2 10 x für 10 ml

Anwendungszweck:

In vitro Test zur quantitativen Bestimmung der Gamma-Glutamyl-Transferase in Humanserum und -plasma.

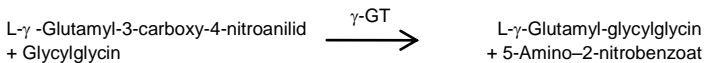
Zusammenfassung:

Die Gamma-Glutamyltransferase dient zur Diagnose und Verlaufsbeurteilung von Erkrankungen der Leber und Gallenwege. Die häufig allein erhöhte Enzymaktivität ist einer der empfindlichsten Indikatoren für eine Leber-Gallenerkrankung. Die Gamma-Glutamyltransferase wird außerdem als sensitiver Screening-Test zur Erkennung eines versteckten Alkoholismus eingesetzt. Bei Patienten mit langzeitiger Medikation von Phenobarbital und Phenytoin finden sich ebenfalls erhöhte GGT-Aktivitäten im Serum.

1969 wurde von Szasz die erste kinetische Bestimmung der GGT im Serum mit dem Substrat γ -Glutamyl-p-nitroanilid und dem Akzeptor Glycylglycin beschrieben. Wegen der schlechten Löslichkeit des γ -Glutamyl-p-nitroanilids untersuchten Persijn und van der Silk zahlreiche Varianten des Substrats auf ihre Löslichkeit. Das Substrat L- γ -Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilid zeigte sich hinsichtlich Löslichkeit und Stabilität überlegen. Die vorliegende Bestimmung verwendet bei gleicher Übereinstimmung der Ergebnisse mit dem alten Substrat das wasserlösliche Substrat L- γ -Glutamyl-3-carboxylat.

Testprinzip:

Enzymatischer Farb-Test



Die GGT überträgt den γ -Glutamylrest von L- γ -Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilid auf Glycylglycin. Das dabei freigesetzte 5-Amino-2-nitrobenzoat ist proportional der GGT-Aktivität und wird photometrisch gemessen.

Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

R1:	
Tris Puffer pH 8,25	100 mmol/l
R2:	
L- γ -Glutamyl-3-carboxy-4-Nitroanilid	2,9 mmol/l
Glycylglycin	100 mmol/l

Herstellung und Haltbarkeit:

R2 wird mit der entsprechenden Menge R1 durch leichtes Schwenken gelöst. NICHT SCHÜTTELN!

Haltbarkeit Arbeitsreagenz:

15 Tage	bei + 2°C bis + 8°C
3 Tage	bei +20°C bis +25°C

Untersuchungsgut:

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen

Haltbarkeit:	7 Tage	bei +20°C bis +25°C
	7 Tage	bei + 2°C bis + 8°C

Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.

Hinweis:

In vitro Diagnostikum.

Weitere sicherheitsrelevante Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten. Dieses steht auf unserer Homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com> zum Download bereit.

Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Einschränkungen des Verfahrens – Interferenzen:

Als Bewertung gilt Wiederfindung \pm 10% vom Ausgangswert.

Icterus: keine Beeinflussung bis zum Index I von 10 (entsprechend ca. 10 mg/dl Bilirubin).

Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index H von 330 (ca. 330 mg/dl Hämoglobin)

Lipämie (Intralipid): Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index L von 1330 (ca. 2660 mg/dl Triglyceride). Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen L-Index (Trübung) und Triglyceridkonzentration.

Die Auswirkung von Medikamenten oder deren Metaboliten auf den Test ist nicht in allen Fällen bekannt. Im Zweifelsfall wird deshalb empfohlen, den Test nach Absetzen der Medikation zu wiederholen. Ein Absetzen der Medikation darf allerdings nur nach Anweisung des behandelnden Arztes erfolgen.

Messbereich:

4 - 232 U/l bzw. 0,05 – 3,87 μ kat/l

Bei höheren Aktivitäten wird die Probe (z.B. 1+9) mit Natriumchlorid-Lösung verdünnt, die Bestimmung wiederholt und das Ergebnis mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor (z.B. 10) multipliziert

Testverfahren:

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

Gelieferte Materialien

•Gebrauchsfertige Lösungen wie vorher angegeben

Zusätzlich benötigte Materialien

• Kalibrations- und Kontrollmaterial wie nachfolgend beschrieben

Manuelle Testdurchführung:

Wellenlänge:	Hg 405nm (400-420nm)
Temperatur:	+25 / +30 / +37°C
Schichtdicke:	1 cm
Messung:	Luft oder Aqua dest.

Arbeitsreagenz	Makro	Semi-Micro	Micro
Probe	2500 μ L 250 μ l	1000 μ L 100 μ L	500 μ L 50 μ L

Mischen und Extinktionen ablesen. Gleichzeitig die Stoppuhr starten. Im Abstand von 1, 2 und 3 Minuten weitere Ablesungen durchführen und $\Delta E/\text{min}$ bilden

Berechnung:

Standardisierung nach Szasz 1974

	Makro	Semi-Micro	Micro
Hg 405nm $\Delta E/\text{min}$ x	1158	1158	1158

Normalwerte 37°C:

	Szasz 1974	IFCC	
Neugeborene	< 278	< 292	U/L
Kinder, 1 Tag	< 163	< 171	U/L
Kinder, 2-5 Tage	< 200	< 210	U/L
Kinder, 6 Tage-6 Monate	< 220	< 231	U/L
Kinder, 7-12 Monate	< 37	< 39	U/L
Kinder, 1-3 Jahre	< 19	< 20	U/L
Kinder, 4-6 Jahre	< 25	< 26	U/L
Kinder, 7-12 Jahre	< 18	< 19	U/L
Kinder, 13-17 Jahre (w)	< 36	< 38	U/L
Kinder, 13-17 Jahre (m)	< 49	< 51,5	U/L
Männer	< 61	< 66	U/L
Frauen	< 36	< 40	U/L

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln. Für diagnostische Zwecke sind die GGT-Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze)

4 U/l bzw. 0,05 μ kat/l

Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren GGT-Aktivität, die von Null unterschieden werden kann.

Impräzision:

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben bestimmt und ergaben folgende Ergebnisse:

Probe	In der Serie		
	MW U/l	SD U/l	VK %
Probe 1	41,7	0,64	1,54
Probe 2	85,5	0,59	0,69
Probe 3	173	1,12	0,65

Probe	Tag / Tag		
	MW U/l	SD U/l	VK %
Probe 1	40,5	0,75	1,85
Probe 2	104	2,08	2,01
Probe 3	175	2,98	1,71

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon GGT (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden folgende Ergebnisse erzielt:

$$y = 0,979 x + 1,863; \quad r = 1,000$$

Qualitätskontrolle:

Humanes Kontrollserum		
Contronorm [®] Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Contropath [®] Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320

Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors und den länderspezifischen Richtlinien anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der festgesetzten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall beschreiben, dass Werte außerhalb des Bereiches liegen.

Kalibration:

S1: 0.9% NaCl		
S2: Bio Cal [®] E	10 x 3 ml	#1430

Entsorgung:

Beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Literatur:

1. Bablock W. et al A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790
2. Glick M.R. Ryder K.W., Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation, Clin Chem 1986;32:470-474
3. Passing H., Bablock W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from two Different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709-720
4. Persijn JP, van der Silk W. A new method for the determination of gamma-glutamyltransferase J Clin Chem Biochem 1976;4:421
5. Shaw L.M. Keeping pace with a popular enzyme GGT. Diagnostic Medicine 1982; May/June 1-8
6. Szasz G. A kinetic photometric method for serum γ -glutamyl-transferase J. Clin Chem 1969;15:124-136
7. Szasz G. Methods of Enzymatic Analysis 2nd English ed New York: Academic Press Inc. 1974:717
8. Szasz G. Persijn J.P. et al. Z Klin Chem Klin Biochem 1974;12:228
9. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 4th ed. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft; 1992
10. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests 3rd ed. Philadelphia, Pa. W.B. Saunders Company. 1995:286
11. Zawta B. Klein G. Bablock W Temperature Conversion in Clinical Enzymology Klin Lab 1994;40:33-42
12. Thomas L, Klein G. Neue vorläufige Normalbereiche für neun Serumenzyme. Deutsches Ärzteblatt 2006;103;Heft 7.