

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 2009 г. № _____ -Пр/09

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор Управляющей

компания ООО «Эйлитон» - ООО «Юнимед-

менеджмент»

А.Н.Шибанов

2009г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагента для определения активности гамма-глутамил трансферазы в сыворотке крови человека кинетическим методом «гамма-ГТ-UTS»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «гамма-ГТ-UTS» предназначен для количественного определения активности гамма-глутамилтрансферазы в сыворотке крови человека кинетическим методом в клиничко-диагностических и биохимических лабораториях.

1.2. Набор рассчитан, в зависимости от варианта комплектации, на проведение 100 (комплект 1); 125 (комплект 2), 200 (комплект 3) или 500 (комплект 4) определений при расходе 1,0 мл раствора рабочего реагента на один анализ.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Гамма-глутамилтрансфераза (гамма-ГТ) катализирует реакцию переноса глутамильной группы с гамма-глутамил-3-карбокси-4-нитроанилида на глицилглицин с образованием 2-нитро-5-нитробензоата согласно методике Зейца-Персиджина (1974). Скорость образования 2-нитро-5-нитробензоата прямо пропорциональна активности гамма-глутамилтрансферазы и измеряется фотометрически при 405 нм. по следующей схеме:

$L - \text{гамма} - \text{Глутамил} - 3 - \text{карбокси} - 4 - \text{нитроанилид} + \text{Глицилглицин} \xrightarrow{\text{гамма-ГТ}}$

$L - \text{гамма} - \text{Глутамил} - \text{глицилглицин} + 2 - \text{нитро} - 5 - \text{нитробензойная} _ \text{кислота}$

2.2. Клиническая диагностика

Гамма-ГТ - это фермент, который в высокой концентрации содержится в печени, почках, поджелудочной железе и предстательной железе. Содержание гамма-ГТ измеряется при диагностике и лечении болезней печени и гепатобилиарного тракта, таких как алкогольный цирроз, первичная и вторичная опухоли печени. Исследование уровня гамма-ГТ незаменимо как «отсеивающий» тест и метод контроля за течением известного патологического процесса.

Клинический диагноз не может быть поставлен по результатам одного анализа, он должен объединять как клинические, так и лабораторные данные.

2.3. Состав набора

Компоненты и их концентрации в реакционной смеси:

Наименование	Состав	Концентрация
P1	Трис	100 ммоль/л
Буферный раствор, pH 8,6	Глицилглицин	100 ммоль/л
P2	L-гамма-глутамил-3-карбокси-4-нитроанилид	3 ммоль/л
Субстрат		

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Набор обеспечивает линейную область определения активности гамма-ГТ от 5 Е/л до 250 Е/л, отклонение от линейности не превышает 5%. Чувствительность – не более 5 Е/л, коэффициент вариации результатов определений – не более 5%.

3.2. Качество набора можно оценивать по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом (по Зейцу-Персиджину).

3.3. Нормальные величины активности гамма-ГТ в сыворотке крови взрослого человека составляют: у мужчин – 10,4–33,8 Е/л; у женщин – 8,8–22,0 Е/л.

3.4. Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон значений нормальных величин для обследуемого контингента людей.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

4.2. Реагент 1 содержит глицилглицин, а реагент 2 L-гамма-глутамил-3-карбокси-4-нитроанилид. Следует избегать попадания реагента на кожу и слизистые. В случае попадания их на кожу и слизистые оболочки необходимо промыть пораженные участки большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с набором необходимо соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

- Спектрофотометр, программируемый фотометр или анализатор, длина волны 405 нм, термостатируемая при $+37^{\circ} \pm 0,5^{\circ} \text{C}$ кювета с длиной оптического пути 10 мм*

- Термостат или водяная баня, обеспечивающие температуру $+37^{\circ} \text{C} \pm 0,5^{\circ} \text{C}$

- Секундомер

- Пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 100 и 1000 мкл

- Цилиндры мерные объемом 25 и 100 мл

- Колба коническая вместимостью не менее 150 мл

- 0,9% раствор NaCl (физиологический раствор)

- Вода дистиллированная или деионизированная

- Перчатки резиновые или пластиковые

***Внимание:** при использовании кювет с длиной оптического пути, отличной от 10 мм, требуется перерасчет фактора набора. При использовании биохимического анализатора с ненормированной длиной оптического пути требуется калибровка по сывороточным калибраторам, аттестованным по значению активности гамма-ГТ данным методом (по Зейцу-Персиджину).

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Негемолизированная сыворотка крови. **Плазму крови использовать не рекомендуется.**

6.2. Образцы сыворотки крови можно хранить при комнатной температуре ($+18-25^{\circ} \text{C}$) не более 8 часов, при температуре $+2-8^{\circ} \text{C}$ – не более 3 суток или при температуре минус 20°C – не более 1 месяца. Повторное замораживание образцов не рекомендуется.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. **Приготовление рабочего реагента:** смешать в колбе конической 4 объема Реагента 1 и 1 объем Реагента 2, отмеренные мерными цилиндрами. Раствор рабочего реагента стабилен 21 сутки при температуре $2-8^{\circ} \text{C}$ или 3 суток при $18-25^{\circ} \text{C}$.

7.2. Раствор рабочего реагента прогреть до $+37^{\circ} \text{C}$.

7.3. Компоненты реакционной смеси отбирать в объемах, указанных в таблице:

Наименование	Объем, мкл
Рабочий реагент	1000
Сыворотка или плазма крови	100

Примечание. При использовании автоматических или полуавтоматических биохимических анализаторов количество реагентов и анализируемых образцов в зависимости от объема используемой кюветы может быть пропорционально изменено (соотношение сыворотки или плазмы крови к рабочему реагенту составляет 1:10).

8.1. Измерить оптическую плотность анализируемого образца (D_0) при температуре $+37^{\circ}\text{C}$, при длине волны 405 нм против дистиллированной воды или воздуха.

8.2. Включить таймер и через 1, 2 и 3 минуты (точно!) аналогично измерить оптическую плотность анализируемого образца (D_1 , D_2 и D_3).

9.1. Рассчитать среднее изменение оптической плотности пробы в минуту (ΔD):

9.2. Активность гамма-ГТ в сыворотке или плазме крови А (Е/л) определить по формуле:

где 1270 – фактор пересчета для выражения активности гамма-ГТ в Е/л.

9.3. Если вычисленное значение ΔD превышает величину 0,21 ед. опт. плотн./мин, развести исследуемый образец физиологическим раствором в соотношении 1:1, повторить анализ, а результат определения умножить на 2.

10.1. Набор реагентов «гамма-ГТ-UTS» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности.

10.2. Срок годности набора 12 месяцев.

10.3. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.4 Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов могут храниться при температуре 2–8 °С в плотно закрытых флаконах в темном месте в течение всего срока годности набора при условии отсутствия загрязнений.

10.5. Рабочий реагент можно хранить в плотно закрытом флаконе при температуре 2–8 °С не более 21 суток или при комнатной температуре (18–25 °С) не более 5 суток.

10.6. Оптическая плотность рабочего реагента при 405 нм не должна превышать 1,20 ед. опт. плотн.

10.7. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

По вопросам, касающимся качества набора «гамма-ГТ-UTS», следует обращаться в ЗАО «А/О ЮНИМЕД» по адресу: 129301, Москва, ул. Касаткина, 3а; Тел. (495) 734-91-31, 8-800-333-91-31. Факс: (495) 564-86-41; E-mail: office@unimedao.ru; <http://www.unimedao.ru>

Руководитель отдела производства реагентов
ООО «ЭЙЛИТОН»

«СОГЛАСОВАНО»

зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики
ГОУ ДПО «РМАПО Росздравнадзора»

д.м.н., профессор Долгов В.В.

2009 г.



Подпись В.В. Дарова
удостоверяю: специалист по
кадровой работе ГОУ ДПО
РМАПО Росздрава
подпись: М.В. Метель

25.05.09

прошнуровано,
и скреплено
лентой.

