

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
Акционерного общества
«ДИАКОН-ДС»

Смирнов А.В.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для определения активности
гамма-глутамилтрансферазы кинетическим методом в сыворотке крови
(ГАММА-ГЛУТАМИЛТРАНСФЕРАЗА ДиаС)

РУ № ФСР 2011/11407

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для определения активности гамма-глутамилтрансферазы (Гамма-ГТ) кинетическим методом в сыворотке крови в клиничко-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор реагентов (ГАММА-ГЛУТАМИЛТРАНСФЕРАЗА ДиаС) должен использоваться квалифицированным персоналом в области клинической лабораторной диагностики.

Количество определений зависит от объема фасовки и используемого биохимического анализатора.

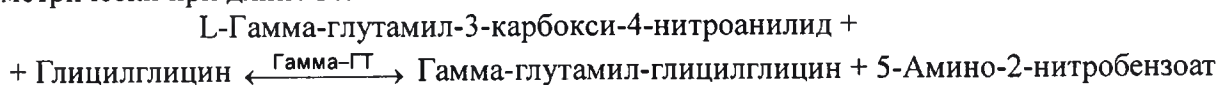
МЕТОД

Кинетический фотометрический тест в соответствии с методикой Зейца Персиджина.

Тест также был стандартизован по методу в соответствии с IFCC. Результаты в соответствии с IFCC получены при использовании специального фактора, или, если использовали калибратор (TruCal U), то использовали калибровочное значение для IFCC метода.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Гамма-глутамилтрансфераза катализирует реакцию переноса глутаминовой кислоты на акцептор - глицил-глицин, с образованием 5-амино-2-нитробензоата. Скорость образования 5-амино-2-нитробензоата, сопровождающаяся повышением оптической плотности образца, прямо пропорциональна активности гамма-глутамилтрансферазы и измеряется фотометрически при длине волны 405 нм.



СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1: буферный раствор, pH 8,28, содержащий Трис, 137 ммоль/л; глицил-глицин, 137 ммоль/л; азид натрия, 0,095% – 5 флаконов (по 20 мл), 5 флаконов (по 80 мл), 2 флакона (по 68 мл), 6 флаконов (по 68 мл), 2 флакона (по 64 мл), 6 флаконов (по 64 мл), 2 флакона (по 65 мл), 6 флаконов (по 65 мл), 4 флакона (по 65 мл), 4 флакона (по 38 мл), 6 фла-

конов (по 24 мл), 6 флаконов (по 16 мл), 4 флакона (по 62 мл), 5 флаконов (по 40 мл), 4 флакона (по 40 мл), 6 флаконов (по 40 мл), 4 флакона (по 35 мл), 6 флаконов (по 33 мл), 2 флакона (по 40 мл), 10 флаконов (по 39 мл), 10 флаконов (по 70 мл), 4 флакона (по 60 мл), или 1 канистра (10000 мл).

Реагент 2: буферно-субстратный раствор, pH 6,0, содержащий L-γ-глутамил-3-карбоксит-4-нитроанилид, 22 ммоль/л; азид натрия, 0,095% – 1 флакон (25 мл), 1 флакон (100 мл), 2 флакона (по 17 мл), 6 флаконов (по 17 мл), 2 флакона (по 20 мл), 6 флаконов (по 20 мл), 4 флакона (по 20 мл), 2 флакона (по 22 мл), 3 флакона (по 13 мл), 6 флаконов (по 4,0 мл), 4 флакона (по 18 мл), 5 флаконов (по 10 мл), 2 флакона (по 32 мл), 4 флакона (по 11 мл), 6 флаконов (по 12 мл), 2 флакона (по 11 мл), 10 флаконов (по 13 мл), 10 флаконов (по 21 мл), 1 флакон (60 мл) или 1 канистра (2500 мл).

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- Линейность в диапазоне от 2,0 до 1200 Е/л.
- Отклонение от линейности не превышает 5%.
- Чувствительность – не более 2,0 Е/л.
- Коэффициент вариации – не более 5%.

В ручном режиме измерений тест применяется для определения активности гамма-ГТ, соответствующей максимальному значению $\Delta A/\text{мин} = 0.20$. Если значение превосходит верхнюю границу диапазона, образец должен быть разведен 1 + 5 изотоническим раствором NaCl (9г/л) и полученный результат должен быть умножен на 6.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для калибровки фотометрических систем рекомендуем использовать мультикалибратор TruCal U, DiaSys, Германия. В случае, если TruCal U используется в качестве калибратора, используйте соответствующие значение для Szasz метода и IFCC метода.

Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов проводите измерения контрольных сывороток TruLab N и P (Szasz 37 °C), DiaSys, Германия.

	Кат. №	Фасовка
TruCal U	5 9100 60 10 060	1×3 мл
TruLab N	5 9000 60 10 060	1×5 мл
TruLab P	5 9050 60 10 060	1×5 мл

Возможно использование других контрольных сывороток, аттестованных данным методом и не уступающих по своим свойствам рекомендуем.

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

По Szasz

Женщины < 32 Е/л;

Мужчины < 49 Е/л

По IFCC

Женщины

Мужчины

Взрослые, Е/л

< 38

< 55

Дети/ подростки, Е/л

1 день – 6 мес

15 – 132

12 – 122

6 мес – 1 год

1 – 39

1 – 39

1–12 лет

4 – 22

3 – 22

13–18 лет

4 – 24

2 – 42

ОБРАЗЦЫ

- Сыворотка крови.
- Гепаринизированная плазма.

Сыворотку крови следует отделить от форменных элементов крови не позднее, чем через 1 час после забора крови.

Стабильность:

не менее 1 недели от -20°C до $+25^{\circ}\text{C}$.

Загрязненные образцы хранению не подлежат.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 1 (Приказ Минздрава РФ от 06.06.2012 № 4н).

В Реагентах 1 и 2 содержится токсичный компонент – азид натрия. При работе с ними следует соблюдать осторожность и не допускать попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

Меры предосторожности – соблюдение “Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противозидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения” (Москва, 1981 г.).

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, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Биреагентная схема — запуск реакции субстратом.

Реагенты 1 и 2 готовы к использованию.

Монореагентная схема — запуск реакции образцом.

Для приготовления Рабочего реагента: смешать 4 объема Реагента 1 и один объем Реагента 2. Тщательно закрыть флаконы с Реагентами 1 и 2 после отбора аликвот. Оставить свежеприготовленный рабочий реагент на 20-30 мин при комнатной температуре ($15-25^{\circ}\text{C}$) для уравнивания компонентов смеси.

Лиофилизированный мультикалибратор TruCal U (DiaSys) готовят согласно аттестационному листу, прилагаемому к каждой серии контрольных сывороток.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Перед проведением анализа рабочий реагент следует нагреть до температуры $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ в течение 5 мин.

Компоненты реакционной смеси отбирать в количествах, указанных в таблице.

Биреагентная схема — запуск реакции субстратом.

Таблица 1

Отмерить, мкл	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Образец/Мультикалибратор	—	100	100
Вода дистиллированная	100	—	—
Реагент 1	1000	1000	1000
Перемешать, инкубировать 1 мин, затем добавить:			
Реагент 2	250	250	250
Перемешать. Через 1 мин измерить оптическую плотность (A_1) и включить секундомер. Измерить оптическую плотность (A_2) через 1, 2 и 3 мин при длине волны 405 нм, при 37°C , относительно холостой пробы, в кюветах с длиной оптического пути 1 см.			

Монореагентная схема — запуск реакции образцом.

Таблица 2

Отмерить, мкл	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Образец/Мультикалибратор	—	100	100
Вода дистиллированная	100	-	-
Рабочий реагент	1000	1000	1000
Пробу и рабочий реагент перемешать. Через 1 мин измерить оптическую плотность (A_1) и включить секундомер. Измерить оптическую плотность (A_2) через 1, 2 и 3 мин при длине волны 405 нм, при 37°C, относительно холостой пробы, в кюветах с длиной оптического пути 1 см.			

Вычислить среднее значение $\Delta A/\text{мин}$ образца/мультикалибратора

РАСЧЕТЫ

По фактору

Из значений оптической плотности вычислить $\Delta A/\text{мин}$ и умножить на соответствующий фактор из нижеследующей таблицы:

$$\Delta A/\text{мин} \times \text{фактор} = \text{активность гамма-ГТ [Е/л]}$$

	по Szasz	по IFCC
Запуск субстратом (405 нм)	1421	1606
Запуск образцом (405 нм)	1158	1309

По мультикалибратору

$$\text{Активность Гамма-ГТ [Е/л]} = \frac{\Delta A / \text{мин}_{\text{образца}}}{\Delta A / \text{мин}_{\text{мультикалибр}}} \times \text{Активность Гамма-ГТ в мультикалиб. [Е/л]}$$

ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Транспортирование и хранение наборов должно производиться при температуре 2–8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается транспортирование и хранение наборов при температуре до 25°C не более 5 суток. Замораживание компонентов набора не допускается.

Срок годности набора – 15 месяцев.

Реагенты стабильны до конца месяца, указанного в сроке годности, при хранении при 2–8°C. Не допускать загрязнения. Не замораживать реагенты! Реагент 2 хранить в защищенном от света месте.

Рабочий реагент хранить в темном месте при температуре 2–8°C не более месяца или при комнатной температуре (15–25°C) не более 5 суток при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения.

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

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

АО «ДИАКОН-ДС» гарантирует качество, эффективность и безопасность медицинского изделия, отсутствие недопустимого риска причинения вреда жизни, здоровью человека и окружающей среде при использовании набора реагентов по назначению в условиях, предусмотренных данной инструкцией по применению.

Гарантийные обязательства АО «ДИАКОН-ДС» распространяются с даты изготовления и на период срока годности медицинского изделия, при условии надлежащего транспортирования, хранения и эксплуатации.

УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ

Набор реагентов **ГАММА-ГЛУТАМИЛТРАНСФЕРАЗА ДиаС** предназначен для применения в клиничко-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике. При работе с набором следует соблюдать требования ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

Утилизацию, уничтожение и дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

По вопросам, касающимся качества набора **ГАММА-ГЛУТАМИЛТРАНСФЕРАЗА ДиаС**, следует обращаться в АО «ДИАКОН-ДС» по адресу: 142290, г. Пущино, Московской обл., Ул. Грузовая 1а; тел. (495) 980-63-38, т/факс (495) 980-66-79.

Начальник Отдела Исследований и Разработок
АО «ДИАКОН-ДС»



О.Ю. Гудкова

«СОГЛАСОВАНО»

Зав. кафедрой клинической
лабораторной диагностики ГБОУ ДПО
РМАПО Минздрава России



д.м.н., профессор В. В. Долгов

01 ИЮН 2015

« _____ » _____ 20__ г.



ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 5 ЛИСТОВ

« 01 ИЮН 2015 » 20__ год

Зав. кафедрой клинической
лабораторной
диагностики ГБОУ ДПО РМАПО
Минздрава России, д.м.н., профессор

Долгов В.В.

