

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 20__ г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ЗАО «Вектор-Бест»



М.Д. Хусаинов

11. 2012 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для определения активности
гамма-глутамилтрансферазы в сыворотке и плазме крови кинетическим методом
(ГАММА-ГТ-НОВО)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов ГАММА-ГТ-НОВО предназначен для определения активности гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ) в сыворотке и плазме крови человека кинетическим методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях.

1.2. Набор производится в лиофилизированной (варианты 1 и 2) и жидкой (варианты 3 и 4) формах. Набор рассчитан, в зависимости от варианта комплектации, на проведение 50 (вариант 1), 100 (варианты 2 и 3) или 200 (вариант 4) определений при расходе 1,0 мл рабочего раствора реагентов на одно определение.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на переносе гамма-глутаминовой группы от L-гамма-глутамил-3-карбокси-4-нитроанилида к глицилглицину под действием гамма-глутамилтрансферазы с образованием 5-амино-2-нитробензоата. Скорость образования 5-амино-2-нитробензоата, измеряемая колориметрически при длине волны 405 нм, прямо пропорциональна активности гамма-глутамилтрансферазы.

2.2. Состав набора

Набор может поставляться в четырех вариантах комплектации (варианты 1, 2, 3 и 4).

В состав набора входят:

– реагент 1 – раствор, содержащий натрия гидроокись, 0,07 моль/л; натрия азид,

Инструкция составлена сотрудниками ЗАО «Вектор-Бест»: нач. отдела биохимии, к.б.н. Л.В. Гаевой и нач. участка Е.А. Курбатовой.

0,05% – 5 флаконов (по 10 мл) (вариант 1) или 5 флаконов (по 20 мл) (вариант 2);

– реагент 1 – раствор, содержащий глицилглицин, 137,5 ммоль/л; натрия азид, 0,05% – 2 флакона (по 40 мл) (вариант 3) или 2 флакона (по 80 мл) (вариант 4);

– реагент 2 – L-гамма-глутамил-3-карбокси-4-нитроанилид, 44 мкмоль; глицилглицин, 1,1 ммоль – 5 флаконов (лиофилизированная смесь) (вариант 1);

– реагент 2 – L-гамма-глутамил-3-карбокси-4-нитроанилид, 88 мкмоль; глицилглицин, 2,2 ммоль – 5 флаконов (лиофилизированная смесь) (вариант 2);

– реагент 2 – раствор, содержащий L-гамма-глутамил-3-карбокси-4-нитроанилид, 22 ммоль/л; натрия азид, 0,05% – 2 флакона (по 10 мл) (вариант 3) или 2 флакона (по 20 мл) (вариант 4).

Конечные концентрации компонентов в рабочем растворе реагентов:

– L-гамма-глутамил-3-карбокси-4-нитроанилид – 4,4 ммоль/л;

– глицилглицин – 110 ммоль/л;

– натрия азид – 0,05%.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Линейность. Линейная область определения активности гамма-глутамилтрансферазы – в диапазоне от 15 до 230 Е/л. Отклонение от «линейности» – не более 5%.

3.2. Чувствительность определения – не более 12 Е/л.

3.3. Коэффициент вариации результатов определений – не более 5%.

3.4. Нормальные величины активности гамма-глутамилтрансферазы в сыворотке и плазме крови: мужчины – не более 50 Е/л; женщины – не более 32 Е/л.

3.5. Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить диапазон нормальных величин активности ГГТ для обследуемого контингента людей.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 1.

4.2. Реагент 1 (в вариантах 1 и 2) содержит натрия гидроокись и натрия азид; реагент 1 и реагент 2 (в вариантах 3 и 4) содержат натрия азид. При работе с этими реагентами и рабочим раствором реагентов следует избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания указанных растворов на кожу и слизистые необходимо промыть поражённые участки большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с набором необходимо соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной ги-

гиены 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, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатитов или любой другой возбудитель вирусных инфекций.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- Любой фотометрический прибор с термостатируемой кюветой, длина волны 405 нм, длина оптического пути 10 мм;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости 100 и 1000 мкл;
- пробирки стеклянные вместимостью 5,0-10 мл;
- термостат, поддерживающий температуру $+37 \pm 0,5$ °C;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- секундомер;
- вода дистиллированная;
- физиологический раствор (0,9 % NaCl).

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для проведения анализа следует использовать свежую сыворотку или ЭДТА плазму крови без следов гемолиза.

Образцы сыворотки и плазмы крови можно хранить при температуре $+2-8$ °C не более 5 сут.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Приготовление рабочего раствора реагентов.

7.1.1. Содержимое одного флакона с реагентом 2 растворить в содержимом одного флакона с реагентом 1 при перемешивании вручную, закрыв флакон той же пробкой (варианты 1 и 2).

7.1.2. Содержимое одного флакона с реагентом 1 объединить с содержимым одного флакона с реагентом 2, перемешать вручную (варианты 3 и 4).

Приготовленный рабочий раствор реагентов можно хранить в плотно закрытом виде при температуре $+2-8$ °C не более 2 мес.

7.2. Перед началом работы рабочий раствор реагентов нагреть до температуры $+37$ °C.

7.3. Внести в термостатируемую кювету фотометрического прибора, поддерживающую температуру $+37 \pm 0,2$ °C, 1000 мкл подогретого рабочего раствора реагентов, добавить 100 мкл анализируемой сыворотки или плазмы крови, тщательно перемешать и включить секундомер.

Примечание. В зависимости от объема используемой кюветы количество рабочего раствора реагентов и анализируемого образца может быть пропорционально изменено (соотношение образца к рабочему раствору реагентов составляет 1:10).

7.4. На автоматических биохимических анализаторах анализ проводить по соответствующим адаптационным листам. При калибровке анализатора по сывороточному мультикалибратору использовать значение активности ГГТ, соответствующее методу Szasz.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Через 1 мин измерить оптическую плотность при длине волны 405 нм против воздуха. Повторить измерения 3 раза с интервалом времени 1 мин.

9. РАСЧЁТЫ

Рассчитать изменение оптической плотности анализируемой пробы за 1 мин (ΔE /мин) по формуле:

$$\Delta E / \text{мин} = \Delta E_n / t,$$

где: ΔE_n – изменение оптической плотности, ед. опт. плотн.;

t – интервал времени между измерениями, мин.

Активность гамма-глутамилтрансферазы (А), Е/л, в анализируемом образце определить по формуле:

$$A = (\overline{\Delta E} / \text{мин}) \times F,$$

где: $\overline{\Delta E} / \text{мин}$ – среднее арифметическое значение изменения оптической плотности анализируемой пробы за 1 мин, ед. опт. плотн./мин;

F – фактор пересчета для выражения активности ГГТ в Е/л ($F=1158$).

Примечание. 1 Е/л = 16,67 нмоль / (л×с).

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор реагентов ГАММА-ГТ-НОВО должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре $+2-8$ °C в течение всего срока годности [24 мес (варианты 1 и 2) и 18 мес (варианты 3 и 4)]. Допускается хранение набора при температуре до $+25$ °C не более 10 сут.

10.2. Рабочий раствор реагентов можно хранить в плотно закрытом виде при температуре +2-8 °С не более 2 мес.

10.3. Для проведения анализа следует использовать свежую сыворотку или ЭДТА плазму крови без следов гемолиза.

10.4. Образцы сыворотки и плазмы крови можно хранить при температуре +2-8 °С не более 5 сут.

10.5. Качество набора может проверяться по отечественным и зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом (метод Szasz).

10.6. В том случае, когда величина активности ГГТ в анализируемых образцах превышает 230 Е/л, образец следует развести физиологическим раствором в 10 раз (20 мкл исследуемого образца + 180 мкл физиологического раствора), повторить анализ и полученный результат умножить на 10.

10.7. Для отбора и добавления анализируемых проб и компонентов набора рекомендуется использовать полуавтоматические пипетки со сменными наконечниками, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования.

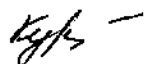
10.8. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

По вопросам, касающимся качества набора ГАММА-ГТ-НОВО, следует обращаться в ЗАО «Вектор-Бест» по адресу:

630559, Новосибирская область, Новосибирский район, п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 227-67-64, 227-75-50, тел./факс (383) 336-73-46

Начальник участка

ЗАО «Вектор-Бест»



Е.А. Курбатова

Начальник отдела, к.б.н.

ЗАО «Вектор-Бест»



Л.В. Гаева

Проректор ГОУ ВПО НГМУ Росздрава
по лечебной работе, д.м.н., профессор
М.П.



Е.Л. Потеряева

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью
5 листов

Борн