

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
Акционерного общества
«ДИАКОН-ДС»



Корзун Т.Ю.

« 09 »

09

2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ по применению

Набор реагентов для определения активности гамма-глутамилтрансферазы кинетическим методом в сыворотке крови (ГАММА-ГЛУТАМИЛТРАНСФЕРАЗА ДДС)

по ТУ 21.20.23.110-010-48813770-2016

НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

«Набор реагентов для определения активности гамма-глутамилтрансферазы кинетическим методом в сыворотке крови (ГАММА-ГЛУТАМИЛТРАНСФЕРАЗА ДДС)», по ТУ 21.20.23.110-010-48813770-2016 предназначен для определения активности гамма-глутамилтрансферазы кинетическим методом в сыворотке крови в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор реагентов (ГАММА-ГЛУТАМИЛТРАНСФЕРАЗА ДДС) должен использоваться квалифицированным персоналом в области клинической лабораторной диагностики *in vitro*.

Количество определений зависит от объема фасовки и используемого биохимического анализатора.

СПРАВОЧНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Гамма-глутамилтрансфераза (γ -ГТ, ГГТ, глутамилтранспептидаза) катализирует перенос γ -глутамильной группы от γ -глутамилпептидов на другие пептиды, L-аминокислоты или воду. Является ключевым ферментом трансмембранного переноса аминокислот и пептидов. Фермент локализуется в плазматических мембранах клеток с высокой абсорбционной или секреторной активностью (лейкоциты, эритроциты, печень, почки, кишечник, предстательная железа, мозг), а так же в биологических жидкостях (плазма крови, цереброспинальная жидкость, сперма).

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ РОЛЬ

Гамма-ГТ – наиболее чувствительный индикатор гепатобилиарных заболеваний. В сыворотке крови фермент связан ЛПВП и ЛПНП. Комплекс ГГТ-ЛПВП преобладает при безжелтушных формах заболеваний печени, а при холестатических нарушениях преобладает комплекс ГГТ-ЛПНП. ГГТ – наиболее чувствительный индикатор и надежный скрининговый тест при алкоголизме. ГГТ используется в качестве маркера рака поджелудочной железы, рака предстательной железы и гепатомы. Определение ГГТ является более чувствительным индикатором заболеваний печени у детей, чем щелочная фосфатаза. ГГТ является маркером поражения мембран гепатоцитов.

Увеличение активности гамма-ГТ происходит при алкогольной интоксикации, холестазе, гепатите, опухоли печени, метастазах в печень, опухоли поджелудочной железы, циррозе печени, гиперлипидемии, гипертиреозе, инфаркте миокарда, панкреатите, сахарном диабете, ишемии печени.

Набор реагентов (ГАММА-ГЛУТАМИЛТРАНСФЕРАЗА ДДС) относится к вспомогательным средствам диагностики, клинический диагноз не может быть поставлен по результатам одного анализа, необходима консультация квалифицированного специалиста.

ПОКАЗАНИЯ И ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов (ГАММА-ГЛУТАМИЛТРАНСФЕРАЗА ДДС) может быть использован для исследования всех групп населения без градации по демографическому или популяционному признаку для оценки состояния печени, для диагноза и мониторинга алкоголизма, для дифференциального диагноза между заболеваниями скелетных мышц и печени, если повышена активность сывороточной щелочной фосфатазы.

Показания для сдачи анализа на ГГТ: подготовка к оперативному вмешательству; диагностика патологических процессов в печени; подозрение на возникновение опухолей в предстательной и поджелудочной железе; мониторинг лечебных мероприятий при лечении онкологии; оценка токсичного воздействия на организм сильнодействующих лекарственных препаратов; подозрение на развитие цирроза печени или гепатита на фоне алкоголизма; профилактическое наблюдение за страдающими хроническим алкоголизмом; в случае жалоб пациента на возникновение периодических тянущих болей в правом подреберье, утомляемость на фоне постоянной слабости, полное отсутствие аппетита, периодически возникающее чувство тошноты, потемнение мочи и осветление кала.

Набор реагентов (ГАММА-ГЛУТАМИЛТРАНСФЕРАЗА ДДС) предназначен только для однократного применения по назначению.

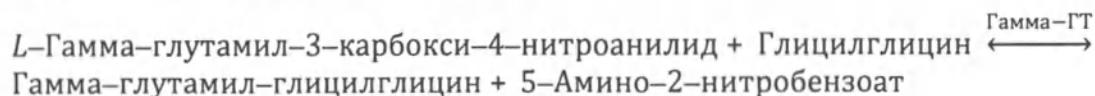
Противопоказаний не имеет.

МЕТОД

Кинетический фотометрический тест в соответствии с методикой Szasz/Persijn.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Гамма-ГТ катализирует реакцию переноса глутаминовой кислоты на акцепторы, подобные глицилглицину. При этом высвобождается 5-амино-2-нитробензоат, концентрацию которого можно измерить при 405 нм. Увеличение поглощения при этой длине волны прямо пропорционально активности гамма-ГТ.



СОСТАВ НАБОРА

Варианты исполнения:

1. Вариант 1:

- | | | |
|-----------------|---|--------------|
| 1.1. Реагент 1: | буферный раствор, pH 8,28, содержащий | |
| | Трис | ≥100 ммоль/л |
| | глицил-глицин | ≥100 ммоль/л |
| | азид натрия | 0,095% |
| 1.2. Реагент 2: | буферно-субстратный раствор, pH 6,0, содержащий | |
| | L-γ-глутамил-3-карбокси-4-нитроанилид | ≥10 ммоль/л |
| | азид натрия | 0,095% |

в следующих комплектациях:

- 1) Реагент 1: 1 флакон (20 мл);
Реагент 2: 1 флакон (5,0 мл).
- 2) Реагент 1: 5 флаконов (по 20 мл);
Реагент 2: 1 флакон (25 мл).
- 3) Реагент 1: 5 флаконов (по 80 мл);
Реагент 2: 1 флакон (100 мл).
- 4) Реагент 1: 4 флакона (по 35 мл);
Реагент 2: 4 флакона (по 11 мл).
- 5) Реагент 1: 4 флакона (по 40 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 20 мл).
- 6) Реагент 1: 6 флаконов (по 40 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 32 мл).
- 7) Реагент 1: 2 флакона (по 68 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 17 мл).
- 8) Реагент 1: 6 флаконов (по 68 мл);
Реагент 2: 6 флаконов (по 17 мл).
- 9) Реагент 1: 2 флакона (по 64 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 20 мл).
- 10) Реагент 1: 6 флаконов (по 64 мл);
Реагент 2: 6 флаконов (по 20 мл).
- 11) Реагент 1: 2 флакона (по 65 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 20 мл).
- 12) Реагент 1: 6 флаконов (по 33 мл);
Реагент 2: 6 флаконов (по 12 мл).
- 13) Реагент 1: 6 флаконов (по 65 мл);
Реагент 2: 6 флаконов (по 20 мл).
- 14) Реагент 1: 4 флакона (по 65 мл);
Реагент 2: 4 флакона (по 20 мл).
- 15) Реагент 1: 4 флакона (по 38 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 22 мл).
- 16) Реагент 1: 6 флаконов (по 24 мл);
Реагент 2: 3 флакона (по 13 мл).
- 17) Реагент 1: 6 флаконов (по 16 мл);
Реагент 2: 6 флаконов (по 4,0 мл).
- 18) Реагент 1: 4 флакона (по 62 мл);
Реагент 2: 4 флакона (по 18 мл).
- 19) Реагент 1: 5 флаконов (по 40 мл);
Реагент 2: 5 флаконов (по 10 мл).
- 20) Реагент 1: 4 флакона (по 20 мл);
Реагент 2: 1 флакон (20 мл).
- 21) Реагент 1: 4 флакона (по 90 мл);
Реагент 2: 1 флакон (90 мл).
- 22) Реагент 1: 4 флакона (по 60 мл);
Реагент 2: 1 флакон (60 мл).
- 23) Реагент 1: 4 флакона (по 44 мл);
Реагент 2: 4 флакона (по 11 мл).
- 24) Реагент 1: 4 флакона (по 15 мл);
Реагент 2: 1 флакон (15 мл).
- 25) Реагент 1: 1 канистра (10000 мл);
Реагент 2: 1 канистра (2500 мл).
- 26) Реагент 1: 4 флакона (по 17 мл);
Реагент 2: 1 флакон (18 мл).

- 27) Реагент 1: 4 флакона (по 31 мл);
 Реагент 2: 2 флакона (по 16 мл).

2. Вариант 2:

- 2.1. Реагент 1: буферный раствор, pH 8,28, содержащий
 Трис ≥ 100 ммоль/л
 глицил-глицин ≥ 100 ммоль/л
 азид натрия 0,095%
- 2.2. Реагент 2: буферно-субстратный раствор, pH 6,0, содержащий
 L-γ-глутамил-3-карбокси-4-нитроанилид ≥ 10 ммоль/л
 азид натрия 0,095%
- 2.3. Идентификационная метка

в следующих комплектациях:

- 1) Реагент 1: 5 флаконов (по 20 мл);
 Реагент 2: 1 флакон (25 мл);
 Идентификационная метка: 1 штука.
- 2) Реагент 1: 5 флаконов (по 80 мл);
 Реагент 2: 1 флакон (100 мл);
 Идентификационная метка: 1 штука.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- Линейность в диапазоне от 8,0 до 350 Е/л.
- Отклонение от линейности не превышает 5%.
- Чувствительность – не более 4,0 Е/л.
- Коэффициент вариации – не более 3%.

При активности гамма-глутамилтрансферазы в сыворотке крови более 350 Е/л (изменение оптической плотности пробы в минуту $\Delta A/\text{мин}$ не должно превышать 0,20) анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором (0,9% NaCl) в 5 раз, повторить анализ и полученный результат умножить на 5.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов рекомендуем проводить измерения контрольной сыворотки «Норма» (TruLab N) (метод Szasz/Persijn) и контрольной сыворотки «Патология» (TruLab P) (метод Szasz/Persijn) производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия).

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

Для калибровки автоматических фотометрических систем и уточнения фактора пересчета для полуавтоматических биохимических анализаторов рекомендуем использовать мультикалибратор TruCal U (метод Szasz/Persijn) производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия). Концентрация ГГТ в TruCal U прослеживается до коэффициента молярной экстинкции в соответствии с оригинальной процедурой IFCC.

Калибровку рекомендуем проводить в следующих случаях: при непрохождении контроля качества (в случае выхода значений контроля качества за пределы установленных диапазонов для используемого лота контрольного материала), при использовании нового набора.

РЕФЕРЕНСНЫЕ/НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В сыворотке крови по W. Heil, V. Ehrhardt, 2008:

Возраст
 Дети:

ГГТ, Е/л

	новорожденные	до 185
	до 6 мес	до 204
	до 12 мес	до 34
	1 – 3 года	до 18
	3 – 6 лет	до 23
	6 – 12 лет	до 17
	12 – 17 лет (муж)	до 45
	12 – 17 лет (жен)	до 33
Взрослые:	Мужчины	до 61
	Женщины	до 36

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

ОБРАЗЦЫ

Сыворотка (без гемолиза). Взятие крови для анализа следует проводить с использованием стандартных процедур для венозной крови. Образцы сыворотки должны быть отделены от форменных элементов крови центрифугированием не позднее, чем через 1 ч после забора.

Стабильность:

1 нед между -20°C и 25°C

Хранить в темноте!

Замораживать образцы можно не более одного раза!

Загрязненные образцы хранению не подлежат.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а (Приказ Минздрава РФ от 06.06.2012 № 4н).

В Реагентах 1 и 2 содержится токсичный компонент – азид натрия. При работе с ними соблюдайте осторожность и не допускайте попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промойте пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании выпейте 0,5 л теплой воды и вызовите рвоту. При необходимости обратитесь к врачу.

Все компоненты набора, в используемых концентрациях для *in vitro* диагностики, являются нетоксичными.

На маркировку реагента 1 и реагента 2, коробки с набором наносится графический символ  - *Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению* (по ГОСТ Р ИСО 15223-1).

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 надевайте 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.

Соблюдайте требования ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

Физические риски (возможность самопроизвольного взрыва или возгорания) отсутствуют.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Биохимический анализатор, поддерживающий длину волны 405 нм;
- спектрофотометр, поддерживающий длину волны 405 нм, с длиной оптического пути 1 см;

- термостат водяной;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 10 до 5000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (допустимая погрешность не более 3%);
- мультикалибратор TruCal U «DiaSys Diagnostic Systems GmbH»;
- посуда стеклянная мерная лабораторная;
- вода дистиллированная;
- физиологический раствор (0,9% NaCl);
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

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. Для стабилизации компонентов раствора, рабочий реагент перед использованием следует выдержать 20–30 мин при комнатной температуре (15–25°C). Рабочий реагент можно хранить при температуре 2–8°C в течение 4 недель или при комнатной температуре (15–25°C) в течение 5 суток, при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения, в защищенном от света месте.

Следует тщательно закрывать флаконы с Реагентами 1 и 2 непосредственно после каждого использования, в том числе при хранении на борту автоматических биохимических анализаторов (в нерабочее время).

Лиофилизированный мультикалибратор TruCal U производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия) готовить согласно прилагаемой к каждому лоту инструкции.

При наличии системы идентификации набора реагентов активировать анализатор с помощью Идентификационной метки способом, предусмотренным производителем анализатора.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Адаптации к автоматизированным системам запрашивайте дополнительно.

Компоненты реакционной смеси отбирать в количествах, указанных в таблицах.

Биреагентная схема – запуск реакции субстратом.

Отмерить, мкл	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Дистиллированная вода	100	–	–
Мультикалибратор	–	100	–
Образец	–	–	100
Реагент 1	1000	1000	1000
Перемешать, инкубировать 1 мин при 37°C, затем добавить:			
Реагент 2	250	250	250
Пробы тщательно 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.

Перед проведением анализа рабочий реагент следует прогреть при температуре 37±1,0°C в течение 5 мин.

<i>Отмерить, мкл</i>	<i>Контрольная (холостая) проба</i>	<i>Калибровочная проба</i>	<i>Опытная проба</i>
Дистиллированная вода	100	—	—
Мультикалибратор	—	100	—
Образец	—	—	100
Рабочий реагент	1000	1000	1000

Пробы тщательно 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

Примечание: Количество реагентов и анализируемых образцов может быть пропорционально изменено в зависимости от объема используемой кюветы и типа используемого биохимического анализатора (соотношение образца к рабочему реагенту составляет 1:10).

РАСЧЕТЫ

По мультикалибратору:

$$\text{Активность ГГТ [Е/л]} = \frac{\Delta A / \text{мин}_{\text{оп}}}{\Delta A / \text{мин}_{\text{кал}}} \times \text{Активность ГГТ в мультикалибраторе [Е/л]},$$

где: $\Delta A/\text{мин}_{\text{оп}}$ — изменение оптической плотности опытной пробы в минуту, ед.опт.пл.;
 $\Delta A/\text{мин}_{\text{кал}}$ — изменение оптической плотности калибровочной пробы в минуту, ед.опт.пл.

По фактору (указан в паспорте к набору):

Определение активности ГГТ можно проводить по фактору, который указывается в паспорте к набору (фактор зависит от типа используемого анализатора). Рекомендуем уточнять значение фактора по мультикалибратору TruCal U производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия), аттестованному по активности ГГТ в соответствии с методом Szasz/Persijn.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ (СПЕЦИФИЧНОСТЬ/ПОМЕХОУСТОЙЧИВОСТЬ)

Аскорбиновая кислота до 300 мкг/мл (30 мг/дл), билирубин до 684 мкмоль/л (40 мг/дл), гемоглобин до 4,0 г/л (400 мг/дл) и липемия до 22,52 ммоль/л (2000 мг/дл) триглицеридов не влияют на точность анализа. Дополнительных веществ (АЛФ), устраняющих липемичность сыворотки, не требуется.

ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре 2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается хранение наборов при температуре до 25°C не более 5 суток. Замораживание компонентов набора не допускается.

Транспортирование должно производиться с использованием крытого грузового авто, авиа, ж/д транспорта, в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре 2-8°C. Допускается транспортирование наборов при температуре до 25°C не более 5 суток.

Изделия, транспортированные и хранившиеся с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

Срок годности набора – 18 месяцев.

Прекратить применение серии изделия по истечению срока ее годности.

Срок годности Идентификационной метки – ограничен моментом активации анализатора.

При соблюдении условий хранения все компоненты набора стабильны в течение всего срока годности.

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов могут храниться при температуре 2-8°C в защищенном от света месте в течение всего срока годности набора при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения.

Рабочий реагент можно хранить при температуре 2-8°C в течение 1 месяца или при комнатной температуре (15-25°C) в течение 5 суток, при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения, в защищенном от света месте.

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

ТРЕБОВАНИЯ ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Набор (ГАММА-ГЛУТАМИЛТРАНСФЕРАЗА ДДС) не содержит взрывоопасных веществ, представляющих угрозу окружающей среде и здоровью медицинского персонала, при соблюдении всех мер безопасности и утилизации набора, рекомендованных производителем.

УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ

Изделие, пришедшее в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежит утилизации.

Утилизацию или уничтожение Набора реагентов, неиспользованных реактивов, дезинфекцию следует проводить в соответствии с СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» для Класа «Б» медицинских отходов и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

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.

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

РУ № ФСР 2007/01436

Инструкция утверждена 09 СЕН 2020.

Начальник Отдела Исследований и Разработок
АО «ДИАКОН-ДС», к.б.н.

О.Ю. Гудкова

«СОГЛАСОВАНО»
Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 8 ЛИСТОВ

«10» 09 2020 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.

