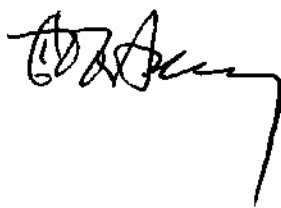


КОПИЯ ВЕРНА



УТВЕРЖДАЮ

Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав потребителей и
социального благополучия


" 15 " _____ 2005 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения активности
гамма-глутамилтрансферазы в сыворотке крови
(Гамма-ГТ-ОЛЬВЕКС)

Назначение

Набор Гамма-ГТ-ОЛЬВЕКС предназначен для количественного определения активности гамма-глутамилтрансферазы (гамма-ГТ) в сыворотке крови человека методом непрерывной регистрации (кинетическим) в клинико-диагностических лабораториях и в научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 50 определений при расходе 1,0 мл рабочего реагента на один анализ.

Инструкция составлена директором по науке ООО «Ольвекс Диагностикум», к.б.н. З.А.Тупиковой и заведующим кафедрой клинической лабораторной диагностики СПб МАПО, д.м.н., профессором А.В.Козловым.

Принцип метода

Метод основан на способности гамма-ГТ переносить γ -глутамиловую группу от синтетического субстрата L- γ -глутамил-3-карбокси-4-нитроанилида на акцептор глицилглицин, что сопровождается высвобождением в инкубационную среду 4-нитроанилида (5-амино-2-нитробензоата). Скорость образования 4-нитроанилида прямо пропорциональна активности гамма-ГТ в пробе и измеряется фотометрически при длине волны 405 нм.

L- γ -глутамил-3-карбокси-4-нитроанилид + глицилглицин $\xrightarrow{\gamma\text{-ГТ}}$

L- γ -глутамилглицилглицин + 4-нитроанилин

Состав набора

В состав набора реагентов входят следующие компоненты:

- реагент 1 (буферный раствор), pH 8,0, содержащий трис(гидроксиметил)аминометан, 250 ммоль/л; натрия азид, 0,25 г/л; глицилглицин, 120 ммоль/л; соляная кислота до pH 8,0 – 1 флакон (40 мл);

- реагент 2 (L- γ -глутамил-3-карбокси-4-нитроанилид), pH 7,15, содержащий трис(гидроксиметил)аминометан, 20 ммоль/л; γ -глутамил-3-карбокси-4-нитроанилид, 6,9 г/л; натрия азид, 0,5 г/л; соляная кислота до pH 7,15 – 1 флакон (10 мл).

Аналитические характеристики

Набор обеспечивает линейную область определения активности гамма-ГТ в диапазоне от 5,0 до 230 Е/л, отклонение от линейности - не более 5%.

Чувствительность - не более 2,0 Е/л.

Коэффициент вариации результатов определений - не более 5%.

Качество набора может проверяться по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

Нормальные величины активности гамма-ГТ в сыворотке крови: у мужчин – 11-50 Е/л, у женщин – 7,0-32 Е/л.

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

Анализируемые образцы

Негемолизированная сыворотка крови человека.

Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

В состав компонентов набора входят азид натрия и соляная кислота. Следует избегать их попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При попадании внутрь следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

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

При работе с набором следует использовать одиоразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы сыворотки крови человека являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять или передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Оборудование, материалы и реагенты:

- Спектрофотометр, длина волны 405 нм, термостатируемая кювета с длиной оптического пути 1,0 см; полуавтоматический или автоматический биохимический анализатор;
- секундомер;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,1 мл и 1,0 мл;
- перчатки резиновые или пластиковые.

Приготовление рабочего реагента

Перед проведением анализа смешать необходимое количество реагента 1 и реагента 2 в соотношении 4:1.

Рабочий реагент можно хранить в темном месте при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более 14 дней.

Проведение анализа

Перед началом работы кювету спектрофотометра и рабочий реагент нагреть до температуры $+37^{\circ}\text{C}$ в течение 10 минут. При измерении оптической плотности постоянно поддерживать температуру $+37^{\circ}\text{C}$.

В термостатируемую кювету фотометра (температура $+37^{\circ}\text{C}$) внести 1,0 мл предварительно подогретого рабочего реагента (температура $+37^{\circ}\text{C}$), добавить 0,1 мл сыворотки крови, перемешать, включить секундомер. Через 1 минуту измерить оптическую плотность пробы против воздуха при длине волны 405 нм. Измерение оптической плотности повторить три раза с интервалом в 1 минуту.

Расчеты

Определить среднее арифметическое значение изменения оптической плотности опытной пробы за 1 минуту по данным трех измерений ($\Delta \bar{E}/\text{мин}$).

Расчет активности гамма-ГТ провести по формуле:

$$A = \Delta \bar{E} / \text{мин} \times F,$$

где: A - активность гамма-ГТ, Е/л;

$\Delta \bar{E} / \text{мин}$ - среднее арифметическое значение изменений оптической плотности пробы за 1 минуту;

F - фактор пересчета, указанный в паспорте набора.

Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя в темном месте при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности.

Срок годности набора - 12 месяцев.

Рабочий реагент можно хранить в темном месте при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более 14 дней.

Реагент 1 и реагент 2 после вскрытия флаконов можно хранить в темном месте при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более 3 месяцев.

Для проведения анализа рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки со сменяемыми наконечниками, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов дозирования.

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

По вопросам, касающимся качества набора Гамма-ГТ-ОЛЬВЕКС, следует обращаться в ООО «Ольвекс Диагностикум» по адресу:

195197, г. Санкт-Петербург, пр. Обуховской обороны, 70.

Тел: (812) 567-84-46, (812) 567-83-02;

Факс: (812) 567-84-29

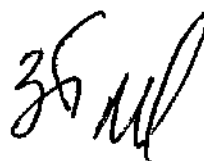
и в Институт государственного контроля лекарственных средств ФГУ «НЦ ЭСМП» Росздравнадзора по адресу:

117246, г. Москва, Научный проезд, д. 14 А.

Тел: (095) 120-60-95, 120-60-96.

Директор по науке

ООО «Ольвекс Диагностикум», к.б.н.



З.А.Тупикова

Заведующий кафедрой клинической
лабораторной диагностики СПбМАПО,
д.м.н., профессор



А.В.Козлов

Тяжело и морально
в работе 5 лет назад

Департаменту губернатор В.В. Губенко с.п.