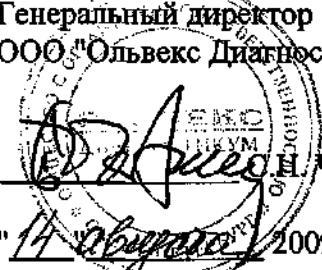


УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора
от _____ 2009 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ООО "Ольвекс Диагностикум"


Н. Чавкин
"14 августа" 2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения активности
гамма-глутамилтрансферазы в сыворотке и плазме крови методом по конечной точке
(Гамма-ГТ-1-ОЛЬВЕКС)

Назначение

Набор Гамма-ГТ-1-ОЛЬВЕКС предназначен для количественного определения активности гамма-глутамилтрансферазы (гамма-ГТ) в сыворотке и плазме крови человека методом по конечной точке в клинико-диагностических лабораториях и в научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 200 определений при конечном объеме реакционной смеси 3,55 мл.

Принцип метода

Метод основан на способности гамма-ГТ переносить γ -глутамиловую группу синтетического субстрата L- γ -глутамил-3-карбокси-4-нитроанилида на акцептор глицилглицин, что сопровождается высвобождением в инкубационную среду 5-амино-2-нитробензоата. Активность фермента прямо пропорциональна количеству образовавшегося 5-амино-2-нитробензоата в пробе и измеряется фотометрически при длине волны 405 (380 – 430) нм.

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

L- γ -глутамилглицилглицин + 5-амино-2-нитробензоат

Состав набора

В состав набора реагентов входят следующие компоненты:

- реагент 1 (буферный раствор), pH 8,25, содержащий трис(гидроксиметил)аминометан гидрохлорид, 220 ммоль/л; натрия азид, 0,25 г/л; глицилглицин, 80 ммоль/л – 1 флакон (80 мл);
- реагент 2 (раствор уксусной кислоты), содержащий уксусную кислоту, 5,6 моль/л – 1 флакон (200 мл);
- реагент 3 (L-γ-глутамил-3-карбокси-4-нитроанилид), pH 7,15, содержащий трис(гидроксиметил)аминометан гидрохлорид, 20 ммоль/л; γ-глутамил-3-карбокси-4-нитроанилид, 6,05 г/л; натрия азид, 0,5 г/л - 1 флакон (20 мл).
- калибратор, содержащий p-нитроанилин, 518 мг/л, готов к применению – 1 флакон (2,0 мл).

Аналитические характеристики

Линейная область определения активности гамма-ГТ – в диапазоне от 160 до 4166 нмоль/(с×л), отклонение от линейности – не более 10%.

Чувствительность определения – не более 120 нмоль/(с×л).

Коэффициент вариации результатов определений – не более 10%.

Качество набора может проверяться при помощи отечественных или зарубежных контрольных сывороток, аттестованных данным методом.

Нормальные величины активности гамма-ГТ в сыворотке крови составляют от 250 до 1767 нмоль/(с×л) для мужчин, от 167 до 1100 нмоль/(с×л) для женщин.

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

Анализируемые образцы

Сыворотка или гепаринизированная плазма крови без следов гемолиза.

Активность фермента сохраняется 7 дней при температуре +2 – 8°C.

Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

В состав компонентов набора входят азид натрия и уксусная кислота. Следует избегать их попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При попадании внутрь следует немедленно 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 одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять или передавать ВИЧ, вирусы гепатита или любые другие возбудители инфекций.

Оборудование, материалы и реагенты:

- Спектрофотометр, длина волны 405 нм, или фотоэлектроколориметр, длина волны 380 – 430 нм, кювета с длиной оптического пути 1,0 см;
- термостат, поддерживающий температуру $+37 \pm 1^\circ\text{C}$;
- колбы вместимостью 100 мл;
- секундомер;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,05 – 2,5 мл;
- пробирки стеклянные химические вместимостью 5,0 – 10 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

Подготовка к анализу

Калибратор готов к применению.

Перед проведением анализа смешать необходимое количество реагента 1 и реагента 3 в соотношении 4:1.

Полученный рабочий раствор можно хранить при температуре $+2 - 8^\circ\text{C}$ в защищенном от света месте в плотно закрытом полиэтиленовом флаконе не более 20 дней.

Построение калибровочного графика

Подготовить пробы в соответствии с табл. 1.

Таблица 1

№ пробы	Калибратор, мл	Дистиллированная вода, мл	Ферментативная активность нмоль/(с×л)
1	0,1	2,45	163
2	0,2	0,6	1042
3	0,2	0,2	2083
4	0,2	0,06	3205
5	0,2	-	4166

Пробы тщательно перемешать, затем в каждую из пяти заранее подготовленных пробирок внести по 0,05 мл каждого из полученных растворов, добавить по 1,0 мл реагента 2 и по 2,5 мл дистиллированной воды. Перемешать и измерить оптическую плотность полученных проб против разведенного дистиллированной водой в соотношении 1:2,55 реагента 2 при длине волны 405 (380 – 430) нм в кювете с длиной оптического пути 1,0 см.

Построить калибровочный график, откладывая на оси ординат значения оптической плотности для каждой пробы, а на оси абсцисс – соответствующие им значения активности гамма-глутамилтрансферазы.

Проведение анализа

При проведении анализа руководствоваться табл. 2.

Таблица 2

Компоненты реакционной среды	Опытная проба	Контрольная проба
Рабочий раствор, мл	0,5	0,5
Сыворотка крови, мл	0,05	-
Пробы тщательно перемешать и инкубировать в течение 15 минут при температуре +37°C.		
Реагент 2, мл	1,0	1,0
Дистиллированная вода, мл	2,0	2,0
Сыворотка крови, мл	-	0,05

Пробы тщательно перемешать и измерить оптическую плотность опытной пробы против соответствующей контрольной пробы при длине волны 405 (380 – 430) нм.

Расчеты

Активность гамма-глутамилтрансферазы рассчитать по калибровочному графику.

Условия хранения и эксплуатации набора

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

Срок годности набора – 12 месяцев.

Рабочий раствор можно хранить при температуре $+2 - 8^{\circ}\text{C}$ в защищенном от света месте в плотно закрытом флаконе не более 20 дней.

Реагент 1 и реагент 2 после вскрытия можно хранить при комнатной температуре ($+18 - 25^{\circ}\text{C}$) в плотно закрытой посуде не более 3 месяцев.

Реагент 3 после вскрытия можно хранить при температуре $+2 - 8^{\circ}\text{C}$ в защищенном от света месте в плотно закрытой посуде не более 3 месяцев.

Калибратор после вскрытия можно хранить при комнатной температуре в защищенном от света месте в плотно закрытой посуде не более 3 месяцев.

Для проведения анализа рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки, со сменными наконечниками, аттестованными 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-1-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 стандартизации и 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 производства

ООО «Ольвекс Диагностикум»

«Согласовано»

Заведующий кафедрой клинической

лабораторной диагностики

д.м.н., профессор



[Handwritten signature]

Ющин К.В.

Подпись *В.В. Долгов*
удостоверяю: специалист по
кадровой работе ГОУ ДПО
РМАПО Росздрава
Подпись: *В.В. Долгов*

Долгов В.В.