

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 2009 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Президент «Федерального государственного учреждения «ЭКОлаб»



С. Г. Марданлы

_____ 2009 г.

**ИНСТРУКЦИЯ
ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
АКТИВНОСТИ ГАММА - ГЛУТАМИЛТРАНСФЕРАЗЫ
В СЫВОРОТКЕ КРОВИ**

(«ГГТ – кинетика»)

1. Назначение

Набор реагентов предназначен для количественного определения активности гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ) в сыворотке крови в клинико-диагностических и биохимических лабораториях.

Набор рассчитан на проведение 80 определений при расходе 1,0 мл раствора реагента на один анализ.

2. Характеристика

2.1. Принцип действия

Гамма-глутамилтрансфераза катализирует реакцию переноса глутаминовой кислоты на акцепторы, подобные глицин-глицину с образованием 5-амино-2-нитробензоата, скорость образования которого прямо пропорциональна активности гамма-глутамилтрансферазы и измеряется фотометрически при длине волны 405 нм.

2.2. Состав набора

- Реагент – субстратно - буферная смесь (трис (гидроксиметил) аминметан, 12,1 г/л; глицилглицин, 13,2 г/л; натрий хлористый, 6,8 г/л; L-гамма-глутамил-3-карбокси-4-нитроанилид, 1,0 г/л) – 8 флаконов (на 10 мл).

3. Аналитические и диагностические характеристики набора

Линейность определения – в диапазоне от 10 Е/л до 250 Е/л, отклонение – не более 5 %.

Чувствительность – не более 8,0 Е/л.

Коэффициент вариации результатов определения - не более 5 %.

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

Нормальные значения активности гамма-глутамилтрансферазы:

- в сыворотке крови:

мужчин	-	18-50 Е/л;
женщин	-	10-35 Е/л.

Рекомендуется в каждой лаборатории определить диапазон нормальных величин для обследуемого контингента.

4. Меры предосторожности при работе с набором

Потенциальный риск применения набора - класс 2а.

Все компоненты набора в применяемых концентрациях являются нетоксичными.

Меры предосторожности - соблюдение «Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического 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 надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5. Оборудование, материалы и реагенты

- Фотометрическое оборудование, длина волны 405 нм, термостатируемая кювета с длиной оптического пути 1,0 см;
- таймер;
- пипетки позволяющие отбирать объемы жидкости 1000 мкл и 50 мкл;
- вода дистиллированная;
- 0,9 % раствор натрия хлористого (физиологический раствор);
- перчатки резиновые или пластиковые.

6. Анализируемые образцы

Негемолизированная сыворотка крови.

Плазму использовать не рекомендуется, так как многие антикоагулянты мешают определению ГГТ.

Сыворотка крови стабильна при температуре (2-8) °С в течение 30 сут.

7. Проведение анализа

7.1. Подготовка к анализу

Приготовление раствора реагента

К содержимому одного флакона с Реагентом добавить 10 мл воды дистиллированной, растворить при перемешивании.

Раствор реагента можно хранить при температуре (2-8) °С в темном месте в плотно закрытом флаконе не более 10 суток или 1 мес – ниже 0 °С.

7.2. Проведение анализа

Перед проведением анализа раствор реагента довести до температуры (37 ± 1) °С.

Раствор реагента и анализируемые пробы отмерить в количествах, указанных в таблице:

Таблица

Отмерить, мкл	Опытная проба
Раствор реагента	1000
Сыворотка крови	50

Примечание. При использовании кюветы меньшего объема расход реагента может быть уменьшен при сохранении указанных выше соотношений.

Перемешать и поместить в термостатируемое отделение при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. Через 1 мин измерить оптическую плотность пробы ($E_{пр}$). Измерение оптической плотности повторить 3 раза с интервалом в 1 мин.

8. Регистрация результатов

Длина волны: 405 нм;

Длина оптического пути: 1,0 см;

Температура анализа: $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$;

Измерение: относительно воздуха.

9. Учет результатов реакции

Рассчитать изменение оптической плотности в минуту (ΔE_1) для каждого определения по формуле (1):

$$\Delta E_1 = E_2 - E_1, \quad \Delta E_2 = E_3 - E_2, \quad \Delta E_3 = E_4 - E_3 \quad (1),$$

где E_1 - значение оптической плотности пробы после инкубации (задержка);

$E_{2,3,4}$ - значение оптической плотности пробы после 1, 2, 3 минуты реакции, соответственно.

Рассчитать среднее арифметическое значение изменения оптической плотности в минуту ($\Delta \bar{E}_{пр} / \text{мин}$) для анализируемой пробы по формуле (2):

$$\Delta \bar{E}_{пр} / \text{мин} = \frac{\Delta E_1 + \Delta E_2 + \Delta E_3}{3} \quad (2),$$

где $\Delta E_1, \Delta E_2, \Delta E_3$ - изменения оптической плотности проб в первую, вторую и третью минуты реакции;

3 - количество минут, в течение которых проводилось измерение.

Рассчитать активность ГТТ (А, Е/л) по формуле (3):

$$A = \Delta \bar{E}_{пр} / \text{мин} \times 2211 \quad (3),$$

где 2211 - фактор расчёта активности ГТТ, Е/л.

Примечание. 1 Е/л = 16,67 нмоль/с $\times$ л (катал).

10. Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре $(2-8)^\circ\text{C}$ в течение всего срока годности. Допускается хранение при температуре до $+25^\circ\text{C}$ не более 5 сут.

Срок годности набора - 2 года.

Раствор реагента можно хранить при температуре $(2-8)^\circ\text{C}$ в плотно закрытом флаконе не более 10 сут. или 1 мес - ниже 0°C .

При активности гамма-глутамилтрансферазы выше 250 Е/л пробу следует развести физиологическим раствором в 5 раз и полученный результат умножить на 5.

По вопросам, касающимся качества набора «ГГТ - кинетика» следует обращаться по адресу 142530, Московская обл., г. Электрогорск, ул. Будённого, д. 1, ЗАО «ЭКОлаб»; тел/факс (49643) 3-30-93, 3-30-85 - отдел сбыта.

Начальник лаборатории
биохимии ЗАО «ЭКОлаб»

Т. М. Сиренко

СОГЛАСОВАНО:

Зав. кафедрой клинической лабораторной
диагностики ГОУ ДПО РМАПО Росздрава
д.м.н., профессор

В. В. Долгов

