

УТВЕРЖДЕНА

«УТВЕРЖДАЮ»

Приказом Росздравнадзора

Генеральный директор
Закрытого акционерного общества

От _____ 2007 г. № _____



Шарышев А.А.
1 октября 2007 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения активности гамма-глутамилтрансферазы кинетическим методом в сыворотке крови
Гамма-глутамилтрансфераза ФС

Взамен инструкции, утвержденной МЗ РФ 30 января 2002 г.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для количественного определения активности гамма-глутамилтрансферазы в сыворотке крови человека кинетическим методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор выпускается в двух видах фасовки и рассчитан, соответственно, на проведение 125 или 500 определений при расходе 1,0 мл рабочего реагента на один анализ.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Гамма-глутамилтрансфераза катализирует реакцию переноса глутаминовой кислоты на акцептор - глицил-глицин, с образованием 5-амино-2-нитробензоата. Скорость образования 5-амино-2-нитробензоата, сопровождающаяся повышением оптической плотности образца, прямо пропорциональна активности гамма-глутамилтрансферазы и измеряется фотометрически при длине волны 405 нм.

СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1: раствор, содержащий трис, 125 ммоль/л; глицил-глицин, 125 ммоль/л; азид натрия, 0,095% – 5 флаконов (по 20 мл) или 5 флаконов (по 80 мл).

Реагент 2: раствор, содержащий L-γ-глутамил-3-карбокси-4-нитроанилид, 20 ммоль/л; азид натрия, 0,095% – 1 флакон (25 мл) или 1 флакон (100 мл).

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Набор обеспечивает линейную область определения активности гамма-глутамилтрансферазы в диапазоне от 8,0 Е/л до 230 Е/л, отклонение от линейности не

превышает 5%. Чувствительность – не более 4,0 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-глутамилтрансферазы в сыворотке крови у женщин составляют 10-32 Е/л, у мужчин – 18-49 Е/л.

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

ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка крови. Сыворотку крови следует отделить от форменных элементов крови не позднее, чем через 1 час после забора крови.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

В реагентах 1 и 2 содержится токсичный компонент – азид натрия. При работе с ними следует соблюдать осторожность и не допускать попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

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, 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.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- Спектрофотометр, программируемый фотометр или биохимический анализатор, длина волны 405 нм, термостатируемая кювета с длиной оптического пути 10 мм;
- термостат, обеспечивающий температуру $+37\pm 1^\circ\text{C}$;
- секундомер;
- цилиндры стеклянные мерные вместимостью 50 и 100 мл;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 100 и 1000 мкл;
- колба коническая вместимостью 200 мл;
- 0,9% раствор NaCl (физиологический раствор);
- перчатки резиновые или пластиковые.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Приготовление рабочего реагента: смешать в колбе конической вместимостью 200 мл 4 объема реагента 1 и один объем реагента 2. Тщательно закрыть флаконы с реагентами 1 и 2 непосредственно после каждого использования.

Рабочий реагент можно хранить в темном месте при температуре $+2-8^\circ\text{C}$ не более месяца или при комнатной температуре ($+18-25^\circ\text{C}$) не более 5 суток.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Перед проведением анализа рабочий реагент следует нагреть до температуры +37°C в течение 5 минут.

Компоненты реакционной смеси отбирать в количествах, указанных в таблице.

Таблица.

Отмерить, мкл	Опытная проба
Сыворотка крови	100
Рабочий реагент	1000

Пробу перемешать и инкубировать в кювете с длиной оптического пути 10 мм при температуре +37°C в течение 1 минуты. Измерить оптическую плотность пробы (E_1) при температуре +37°C при длине волны 405 нм против воздуха, включить секундомер и через 1 минуту (точно!) аналогично измерить оптическую плотность пробы (E_2). Рассчитать $\Delta E/\text{мин} = E_2 - E_1$.

Примечание. При использовании автоматических или полуавтоматических биохимических анализаторов количество реагентов и анализируемых образцов в зависимости от объема используемой кюветы может быть пропорционально изменено (соотношение сыворотки крови к рабочему реагенту составляет 1:10).

РАСЧЕТЫ

Активность гамма-глутамилтрансферазы в сыворотке крови (в Е/л) определить по формуле:

$$A = \Delta E/\text{мин} \times 1158,$$

где: А — активность гамма-глутамилтрансферазы, Е/л;

$\Delta E/\text{мин}$ — изменение оптической плотности пробы за одну минуту, ед. опт. плотн./мин;

1158 — фактор пересчета для выражения активности гамма-глутамилтрансферазы в Е/л.

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

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

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

Срок годности набора — 12 месяцев.

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов могут храниться в темном месте при температуре +2-8°C в течение всего срока годности набора при условии достаточной герметичности флаконов.

Рабочий реагент можно хранить в темном месте при температуре +2-8°C не более месяца или при комнатной температуре (+18-25°C) не более 5 суток.

При активности гамма-глутамилтрансферазы в сыворотке крови выше 230 Е/л анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором в 5 раз, повторить анализ и полученный результат умножить на 5.

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

По вопросам, касающимся качества набора Гамма-глутамилтрансфераза ФС, следует обращаться в ЗАО «Диакон-ДС» по адресу: 142290, г. Пущино, Московской обл., пр. Науки, 5; тел. факс (4967) 33-05-54, 73-06-93.

Директор производства ЗАО «Диакон-ДС»

Сысоев

Сысоева В.И.
1 октября 2007 г.

«СОГЛАСОВАНО»

Зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики ГОУ ДПО «РМАПО Росздрава»



д.м.н., профессор Долгов В.В.

» _____ 2007 г.

Подпись *В.В. Долгова*
удостоверяю: специалист по кадровой работе ГОУ ДПО РМАПО Росздрава
подпись *11.10.2007*

Информация получена с официального сайта Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения www.roszdravnadzor.ru