

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ КИНЕТИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ ГАММА-ГЛУТАМИЛТРАНСФЕРАЗЫ В СЫВОРОТКЕ И ПЛАЗМЕ КРОВИ (МЕТОД ЗЕЙЦА-ПЕРСИНА) (КАТ.№№ В-12652, В-12653, В-12654, В-12655)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для кинетического определения активности гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ) в сыворотке и плазме крови в научных исследованиях. Набор рассчитан на 50, 100, 125 и 500 определений при конечном объёме реакционной смеси 1 мл.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Гамма-глутамилтрансфераза катализирует реакцию расщепления L-γ-глутамил-3-карбоксии-4-нитроанилида с образованием 5-амино-2-нитробензоата. Скорость образования последнего пропорциональна активности ГГТ.

СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1 (Р1). ТРИС-буфер, рН 8,25 – 125 ммоль/л, глицил-глицин – 125 ммоль/л, консервант.

Реагент 2 (Р2). Субстрат L-γ-глутамил-3-карбоксии-4-нитроанилид – 25 ммоль/л.

| Кат.№ | Фасовка |
|---------|--------------------------|
| В-12652 | Р1 1х80 мл + Р2 1х20 мл |
| В-12653 | Р1 5х80 мл + Р2 1х100 мл |
| В-12654 | Р1 5х20 мл + Р2 1х25 мл |
| В-12655 | Р1 1х40 мл + Р2 1х10 мл |

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность – не более 6 Е/л.
Линейность – от 8 до 230 Е/л с отклонением не более 7%.
Коэффициент вариации – не более 7%.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Во избежание возможного инфицирования при работе с образцами крови необходимо надевать одноразовые резиновые перчатки.
В состав реагентов в качестве консерванта входит азид натрия. При попадании реагентов на кожу и слизистые следует промыть поражённое место большим количеством проточной воды.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Анализаторы открытого типа различных изготовителей, дозаторы, позволяющие отбирать объём 0,1–1,0 мл, термостат, секундомер, дистиллированная вода.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Сыворотка крови, свободная от гемолиза, гепаринизированная или ЭДТА-плазма.
ГГТ стабильна в сыворотке крови в плотно закрытой пробирке при 2-8°C в течение 7 суток [1, 2].

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

Приготовление монореагента для схемы 1
Смешать необходимые количества реагентов 1 и 2 в соотношении 4:1. Полученный монореагент стабилен в течение 2 недель при температуре 2-8°C.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны 405 нм.
Кювета с длиной оптического пути 10 мм.
Температура проведения реакции 37°C.

Схема 1. Запуск реакции образцом

| | |
|--|---------------|
| Раствор | Опытная проба |
| Монореагент, мл | 1,0 |
| <i>Инкубировать 5 мин. при температуре 37°C.</i> | |
| Образец, мл | 0,1 |

Пробы тщательно перемешать. Через 60 с измерить оптическую плотность опытной пробы (E₁). Через 60 с повторить измерение (E₂).

Рассчитать изменение оптической плотности за минуту (E₂ - E₁).

Схема 2. Запуск реакции реагентом 2

| | |
|--|---------------|
| Раствор | Опытная проба |
| Реагент 1, мл | 0,8 |
| Образец, мл | 0,1 |
| <i>Перемешать, инкубировать 5 мин. при температуре 37°C.</i> | |
| Реагент 2, мл | 0,2 |

Пробы тщательно перемешать. Через 60 с измерить оптическую плотность опытной пробы (E₁). Через 60 с повторить измерение (E₂).

Рассчитать изменение оптической плотности за минуту (E₂ - E₁).

Примечание. Если вносится 1 мл реагента 1, то объём образца следует увеличить до 0,125 мл, а объём реагента 2 до 0,25 мл.

РАСЧЁТ

Активность А γ-ГТ рассчитать по формуле:
$$A = 1158 \cdot (E_2 - E_1), \text{ Е/л}$$

ПРИМЕЧАНИЕ

Если активность ГГТ выше 230 Е/л образец развести физраствором в 10 раз, анализ повторить, величину рассчитанной активности умножить на 10.

ПАРАМЕТРЫ ДЛЯ БИОХИМИЧЕСКИХ АНАЛИЗАТОРОВ

| | |
|---|---------------------------|
| Тип анализатора | Любой |
| Метод измерения | Кинетика |
| Длина волны, нм | 405 |
| Измерение против | Воздуха или дистилл. воды |
| Температура реакции | 37°C |
| Единица измерения | Е/л |
| Число знаков после запятой | 0 |
| Изменение оптической плотности | Увеличивается |
| Фактор | 1158* |
| Соотношение реагент/проба | 10:1 |
| Количество измерений, не менее | 3 |
| Время преинкубации, сек. | 60 |
| Время реакции, сек. | 60 |
| Верхний предел абсорбции реагента против воды, Е | 0,8 |
| Предел максимальной абсорбции $\Delta E/\text{мин}$. | 0,2 |
| Границы линейности, Е/л | 8-230 |
| Максимум нормы, Е/л | 49 |
| Минимум нормы, Е/л | 7 |

*Для каждого анализатора желательно уточнить фактор пересчёта по контрольным сывороточным калибраторам, аттестованным методом Зейца-Персина.

В случае возникновения каких-либо трудностей можно запросить адаптированную инструкцию по работе с набором «КлиниТест-ГГТ» на вашем анализаторе.

НОРМАЛЬНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Справочно.

| | |
|---------|-----------|
| Женщины | 7-32 Е/л |
| Мужчины | 11-49 Е/л |

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре 2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (12 месяцев). Реагенты после вскрытия флаконов можно хранить при 2-8°C в течение всего срока годности наборов.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества может быть проведён по контрольным сывороткам, аттестованным методом Зейца-Персина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Обеспечение качества лабораторных исследований. Преаналитический этап. Под ред. В.В. Меньшикова, М., 1999, «Лабинформ», с.166-167.
2. Энциклопедия клинических лабораторных тестов. Под ред. проф. Н.У. Тица, М., 1997, «Лабинформ».