



In vitro solutions

# Набор биохимических реагентов для ветеринарии

## ГАММА-ГЛУТАМИЛТРАНСФЕРАЗА

### ДиаВетТест



ООО «ДИАВЕТ»

142290, г. Пушкино, Московской обл.

<https://diakonvet.ru/>

[info@diakonvet.ru](mailto:info@diakonvet.ru)

#### НАЗНАЧЕНИЕ

ГАММА-ГЛУТАМИЛТРАНСФЕРАЗА ДиаВетТест – это набор жидких, готовых к употреблению реагентов для определения активности гамма-глутамилтрансферазы кинетическим методом в сыворотке крови животных и птиц.

Набор реагентов должен использоваться квалифицированным персоналом в области ветеринарной лабораторной диагностики.

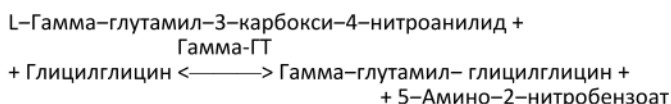
Количество определений зависит от объема фасовки реагентов и типа используемого биохимического анализатора.

#### МЕТОД

Кинетический фотометрический тест в соответствии с методикой Szasz/Persijn.

#### ПРИНЦИП МЕТОДА

Гамма-ГТ катализирует реакцию переноса глутаминовой кислоты на акцепторы, подобные глицилглицину. При этом высвобождается 5-амино-2-нитробензоат, концентрацию которого можно измерить при 405 нм. Увеличение поглощения при этой длине волны прямо пропорционально активности гамма-ГТ.



#### СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1	Буферный раствор, pH 8,28, содержащий Трис $\geq 100$ ммоль/л глицил-глицин $\geq 100$ ммоль/л азид натрия 0,095%
Реагент 2	Буферно-субстратный раствор, pH 6,0, содержащий L-γ-глутамил-3-карбоксы-4-нитроанилид $\geq 10$ ммоль/л азид натрия 0,095%

Реагенты и калибраторы ДиаВетТест поставляются жидкими и готовыми к использованию.

#### АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Параметр	Значение
Линейность	8–350 Е/л
Отклонение от линейности	не более 5%
Чувствительность	не более 4 Е/л
Коэффициент вариации	не более 3%

**Примечание.** Нормальные показатели для разных животных могут варьировать в широких пределах. При активности гамма-глутамилтрансферазы в сыворотке крови более 350 Е/л (изменение оптической плотности пробы в минуту  $\Delta A/\text{мин}$  не должно превышать 0,20) анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором (0,9% NaCl) в 5 раз, повторить анализ и полученный результат умножить на 5.

#### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов рекомендуем проводить измерения контрольной сыворотки «Норма» (TruLab N) (метод Szasz/Persijn) и контрольной сыворотки «Патология» (TruLab P) (метод Szasz/Persijn) производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия).

Возможно использование других контрольных сывороток, аттестованных данным методом и не уступающих по своим свойствам рекомендуемому.

Для калибровки автоматических фотометрических систем и уточнения фактора пересчета для полуавтоматических биохимических анализаторов рекомендуем использовать мультикалибратор TruCal U (метод Szasz/Persijn) производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия). Концентрация ГТТ в

TruCal U прослеживается до коэффициента молярной экстинкции в соответствии с оригинальной процедурой IFCC.

Калибровку рекомендуем проводить в следующих случаях: при непрохождении контроля качества (в случае выхода значений контроля качества за пределы установленных диапазонов для используемого лота контрольного материала), при использовании нового набора.

#### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Только для диагностики *in vitro*.
2. В реагентах 1 и 2 содержится токсичный компонент – азид натрия. При работе с ними соблюдайте осторожность и не допускайте попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промойте пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании выпейте 0,5 л теплой воды и вызовите рвоту. При необходимости обратитесь к врачу. Все компоненты набора, в используемых концентрациях для *in vitro* диагностики, являются нетоксичными.
3. Предпринимать обычные при работе с лабораторными реактивами меры предосторожности.
4. Не использовать реагенты, калибраторы и контроли после истечения срока годности.

#### ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

**Биреагентная схема – запуск реакции субстратом.**

Реагенты 1 и 2 готовы к использованию.

**Монореагентная схема – запуск реакции образцом.**

Для приготовления рабочего реагента: смешать 4 объема Реагента 1 и один объем Реагента 2. Для стабилизации компонентов раствора рабочий реагент перед использованием следует выдержать 20–30 мин при комнатной температуре (15–25°C). Рабочий реагент можно хранить при температуре 2–8°C в течение 4 недель или при комнатной температуре (15–25°C) в течение 5 суток, при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения, в защищенном от света месте.

Следует тщательно закрывать флаконы с Реагентами 1 и 2 непосредственно после каждого использования, в том числе при хранении на борту автоматических биохимических анализаторов (в нерабочее время).

Лиофилизированный мультикалибратор TruCal U производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия) готовят согласно прилагаемой к каждому лоту инструкции.

#### ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

*Адаптации к автоматизированным системам запрашивайте дополнительно.*

Компоненты реакционной смеси отбирать в количествах, указанных в таблицах.

#### Биреагентная схема – запуск реакции субстратом

Отмерить, мкл	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Дистиллированная вода	100	–	–
Мультикалибратор	–	100	–
Образец	–	–	100
Реагент 1	1000	1000	1000
Перемешать, инкубировать 1 мин при 37°C, затем добавить:			
Реагент 2	250	250	250
Перемешать. Через 1 мин измерить оптическую плотность (A <sub>1</sub> ) и включить секундомер. Измерить оптическую плотность (A <sub>2</sub> ) через 1, 2 и 3 мин при длине волны 405 нм, при 37°C, относительно холостой пробы, в кюветках с длиной оптического пути 1 см.			

### Монореагентная схема – запуск реакции образцом

Перед проведением анализа рабочий реагент следует прогреть при температуре  $37 \pm 1,0^\circ\text{C}$  в течение 5 мин.

Отмерить, мкл	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Дистиллированная вода	100	–	–
Мультикалибратор	–	100	–
Образец	–	–	100
Рабочий реагент	1000	1000	1000

Пробы тщательно перемешать. Через 1 мин измерить оптическую плотность ( $A_1$ ) и включить секундомер. Измерить оптическую плотность ( $A_2$ ) через 1, 2 и 3 мин при длине волны 405 нм, при  $37^\circ\text{C}$ , относительно холостой пробы, в кюветках с длиной оптического пути 1 см.

Вычислить среднее значение  $\Delta A/\text{мин}$  образца/мультикалибратора

**Примечание.** Количество реагентов и анализируемых образцов может быть пропорционально изменено в зависимости от объема используемой кюветы и типа используемого биохимического анализатора (соотношение образца к рабочему реагенту составляет 1:10).

### РАСЧЕТЫ

#### По мультикалибратору

$$\text{Активность ГТТ [Е/л]} = \frac{\Delta A / \text{мин}_{\text{оп}}}{\Delta A / \text{мин}_{\text{кал}}} \times$$

х Активность ГТТ в мультикалибраторе [Е/л]

где:  $\Delta A/\text{мин}_{\text{оп}}$  – изменение оптической плотности опытной пробы в минуту, ед.опт.пл.;

$\Delta A/\text{мин}_{\text{кал}}$  – изменение оптической плотности калибровочной пробы в минуту, ед.опт.пл.

### СПЕЦИФИЧНОСТЬ/ПОМЕХОУСТОЙЧИВОСТЬ

Аскорбиновая кислота до 300 мкг/мл (30 мг/дл), билирубин до 684 мкмоль/л (40 мг/дл), гемоглобин до 4,0 г/л (400 мг/дл) и липемия до 22,52 ммоль/л (2000 мг/дл) триглицеридов не влияют на точность анализа. Дополнительных веществ (АЛФ), устраняющих липемичность сыворотки, не требуется.

### ТРАНСПОРТИРОВКА, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

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

#### Замораживание компонентов набора не допускается.

Транспортирование должно производиться с использованием крытого грузового авто, авиа, ж/д транспорта, в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре  $2-8^\circ\text{C}$ . Допускается транспортирование наборов при температуре до  $25^\circ\text{C}$  не более 5 суток.

Изделия, транспортированные и хранившиеся с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

#### Срок годности набора – 18 месяцев.

#### Прекратить применение серии изделия по истечению срока ее годности.

При соблюдении условий хранения все компоненты набора стабильны в течение всего срока годности.

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов могут храниться при температуре  $2-8^\circ\text{C}$  в защищенном от света месте в течение всего срока годности набора при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения.

Рабочий реагент можно хранить при температуре  $2-8^\circ\text{C}$  в течение 1 месяца или при комнатной температуре ( $15-25^\circ\text{C}$ ) в течение 5 суток, при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения, в защищенном от света месте.

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

### ТРЕБОВАНИЯ ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Набор ГАММА-ГЛУТАМИЛТРАНСФЕРАЗА ДиаВетТест не содержит взрывоопасных веществ, представляющих угрозу окружающей среде и здоровью медицинского персонала, при соблюдении всех мер безопасности и утилизации набора, рекомендованных производителем.

### УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ

Утилизацию после проведения исследования следует проводить в соответствии с местными правилами, принятыми для лабораторных отходов.

### ИЗГОТОВИТЕЛЬ

АО «ДИАКОН-ДС», 142290, Московская область, г. Пушкино, ул. Грузовая, д.1а.

Система менеджмента качества сертифицирована на соответствие требованиям: EN ISO 13485, ГОСТ ISO 13485



## ПАМЯТКА ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ

Гамма-глутамилтрансфераза (ГГТ) - микросомальный фермент, который встречается во многих паренхиматозных органах, участвует в обмене аминокислот. Катализирует перенос гамма-глутамилового остатка с гамма-глутамилового пептида на аминокислоту или другой пептид, или на иную субстратную молекулу. Основными органами локализации фермента являются почки, печень и поджелудочная железа. Активность GGT в крови обычно связана с экскрецией синтезируемого в печени фермента и в норме незначительна.

Набор реагентов (ГАММА-ГЛУТАМИЛТРАНСФЕРАЗА ДиаВетТест) возможно использовать на различных моделях полуавтоматических и автоматических и биохимических анализаторах открытого типа.

Не допускается использование набора по истечению срока годности, указанной на упаковке!

### Показания к применению

Наиболее частая причина повышения активности ГГТ в плазме (сыворотке) крови – патология печени. Слабое токсическое воздействие на печень, прием лекарственных препаратов сопровождаются умеренным увеличением активности ГГТ. Более выраженное увеличение активности фермента связано с печеночной обструкцией, метастазами опухоли в печень. Таким образом, исследование активности ГГТ обычно назначают для дифференциальной диагностики патологий печени, мониторинга лечения или оценки токсического воздействия лекарственных препаратов на печень.

### ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА

Кат. №	Состав набора, мл	Общий объем, мл
DV 777 001	Реагент 1: 2x68 Реагент 2: 2x17	170
DV 777 002	Реагент 1: 6x68 Реагент 2: 6x17	510

### Забор образцов

#### 1. Требования к квалификации персонала.

К выполнению исследований допускаются лица, прошедшие подготовку (лаборанты, ветеринарные фельдшера, ветеринарные врачи, химики и др.) по эксплуатации анализатора и методикам выполнения измерений.

#### 2. Отбор проб.

2.1. Отбор крови проводят утром, до кормления животных и проведения лечебных мероприятий. «Правила взятия патологического материала, крови, кормов и пересылки их для лабораторного исследования» утв. Минсельхоз СССР 24.06.1971.

2.2. Для отбора проб крови применяют стеклянные пробирки многократного использования или системы взятия крови (СВК) по ГОСТ ISO 6710-2011.

#### 2.2.1. Правила взятия крови при использовании вакуумных систем:

Обязательное соответствие цвета вакуумной системы и целей исследования.

**Для биохимических исследований используются СВК с красной, желтой или оранжевой крышкой.**

Каждая пробирка содержит определенное количество реагента для указанного на ней объема крови. Пробирки заполняются в соответствии с указанным уровнем, в пределах  $\pm 10\%$  от указанного объема.

При применении СВК с красной/желтой/оранжевой маркировкой, которые содержат активаторы свертывания с биологически инертным гелем, образующие после центрифугирования барьер, отделяющий сыворотку от форменных элементов крови, что позволяет получать образцы более высокого качества и сократить время коагуляции (указывается производителем в инструкциях по применению СВК).

**Внимание! Неправильное соотношение крови и реагента в пробе ведет к недостоверным результатам анализа.**

Сразу после заполнения пробирку необходимо аккуратно перевернуть 4–10 раз на  $180^\circ$  для смешивания крови с наполнителем. Количество перемешиваний указывается в инструкции по применению. Перемешивание необходимо проводить аккуратно, пробирку не трясти, во избежание коагуляции и гемолиза.

**Внимание! В плохо перемешанной пробе образуются микрогустки, приводящие к искажению результатов анализов, а также к поломкам лабораторных анализаторов.**

### 3. Транспортировка.

Пробирки с кровью плотно закрываются пробками и в строго вертикальном положении в термоконтейнерах с хладагентом перемещаются в лабораторию. Время доставки не должно превышать 24 часа при температуре 2,0–8,0°C.

Следует избегать тряски во избежание развития гемолиза. Температура ниже 4°C и выше 30°C может существенно изменить содержание в образце многих аналитов.

### 4. Подготовка проб:

#### 4.1. Получение плазмы крови.

Отобранные пробы крови переливают в центрифужные пробирки и центрифугируют 20–30 минут при 2000–3000 об/мин., отделившуюся плазму переносят в чистые сухие пробирки.

При применении СВК допускается центрифугирование непосредственно в первичной пробирке, в соответствии с инструкцией к использованию.

#### 4.2. Получение сыворотки крови.

**Сыворотка крови должна быть отделена от форменных элементов не позднее 1 часа после забора материала.**

Кровь в стеклянных пробирках, в течение часа после забора, обводят тонкой спицей из нержавеющей стали диаметром 1,0–1,5 мм и ставят в термостат при температуре 37–38°C на 30 минут для окончательного отделения сыворотки. Отделившуюся сыворотку переносят в центрифужные пробирки и центрифугируют в течение 20–30 минут при 2000–3000 об/мин.

**Внимание! Исследования не проводятся при:**

- гемолизе, хилезе сыворотки (плазмы) крови (за исключением исследований, на которые наличие гемолиза, хилеза не влияет [6].
- поступлении в СВК с несоответствующей маркировкой (то есть материал взят не с тем антикоагулянтом, консервантом и др.).
- наличии сгустков в пробах с антикоагулянтом.
- поступлении в СВК с истекшим сроком годности.

### 5. Хранение.

Негемолизованная сыворотка крови.

Стабильность:

1 неделя	между $-20^\circ\text{C}$ и $25^\circ\text{C}$
----------	--

**Хранить в темноте!**

**Загрязненные образцы хранению не подлежат!**

**Замораживать образцы можно не более одного раза!**

### 6. Возможные причины получения недостоверных результатов:

- низкое качество дистиллированной (деионизированной) воды. Для повышения точности калибровки рекомендуется использовать высокоочищенную воду, как для приготовления контрольных сывороток, так и для самой калибровки (нулевая точка).

- недостаточно чистая посуда. Посуду следует мыть хромовой смесью или раствором 4M соляной кислоты в дистиллированной (деионизированной) воде, затем тщательно ополоснуть дистиллированной (деионизированной) водой.

- загрязнение блоков кювет. Рекомендуется регулярно проверять чистоту измерительных кювет с использованием соответствующих утилит анализатора и при необходимости проводить очистку согласно инструкции по эксплуатации на прибор.

- несоблюдение условий хранения и эксплуатации наборов, калибраторов и стандартных сывороток. Рекомендуется заменить реагенты, калибраторы, стандартные сыворотки.

- технические ошибки при программировании методов на автоматических анализаторах. Необходимо проверить соответствие параметров установленной методики с адаптациями производителя к конкретному анализатору.

- ошибки при проведении преаналитического этапа. Необходимо повторно произвести забор крови и выделение сыворотки (плазмы) с соблюдением установленных норм и правил.

- ошибки при приготовлении реагентной смеси, и нарушение соотношения реагент/образец (при работе на полуавтоматических биохимических анализаторах). Необходимо повторить смешивание.



- недостоверные результаты при проведении контроля качества. *Необходимо провести калибровку прибора в соответствии с инструкцией по эксплуатации анализатора.*

## НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ\*

Образец	Нормальный диапазон, Е/л
Собаки	1,0-9,7
Кошки	1,0-12,0
Лошади	2,7-22,4
Крупный рогатый скот (КРС)	4,9-25,7
Свиньи	31,0-52,0
Овцы	20,0-97,0
Куры	5,0-18,0

\*Рекомендуем в каждой лаборатории уточнять диапазон значений нормальных величин для обследуемых животных, которые могут зависеть от различных факторов

## Возможные причины изменения уровня ГГТ:

### Повышение уровня ГГТ:

- Внутри- и внепечёночный холестаз;
- Острый вирусный гепатит;
- Хронический гепатит;
- Токсическое или радиационное поражение печени;
- Панкреатит;
- Гломерулонефрит или пиелонефрит;
- Рак поджелудочной железы, рак простаты, гепатома.

### Понижение уровня ГГТ диагностического значения не имеет.

**ВНИМАНИЕ!** Лабораторное исследование только этого параметра не является достаточным основанием для постановки диагноза, но может быть частью комплексного клинико-терапевтического обследования.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Boyd J.W. The interpretation of serum biochemistry test results in domestic animals, in Veterinary Clinical Pathology, Veterinary Practice Publishing Co., Vol. XIII, # II, 1984.
2. Кондрахин И.П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики. – М.: 2004.
3. Медведева М. А. Клиническая ветеринарная лабораторная диагностика. – М.: «Аквариум Принт», 2013–416 с.
4. Холод В.М. Справочник по ветеринарной биохимии. – В.: 2005.
5. Guder W.G., Zawta B. et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001.
6. Д. Мейер, Дж. Харви. Ветеринарная лабораторная медицина. Интерпретация и диагностика. Пер. с англ. – М.: Софион. 2007, 456 с.
7. Методические рекомендации по применению наборов реагентов «ДиаВетТест» для биохимических исследований сыворотки (плазмы) крови животных на автоматических и полуавтоматических анализаторах. – М.: ФГБУ ЦНМВЛ, Россельхознадзор, 2018.
8. I.S.I.S., Standard International Units - March 2002.

За дополнительной информацией или при рекламациях следует обращаться в **ООО «ДИАВЕТ»:**

142290, г. Пущино, Московской обл.

<https://diakonvet.ru/>

[info@diakonvet.ru](mailto:info@diakonvet.ru)

Рекомендовано Центральной научно-методической ветеринарной лабораторией

