|  |
| --- |
| **Однотестовый картридж для определения** **гамма-глутамилтранспептидазы и** **креатинфосфокиназы (GGT/CPK)**  |
| **Только для использования в ветеринарной *In Vitro* диагностике**  | **PN: 900-216 Версия: А** |

1. **Назначение**

Однотестовый картридж skyla для исследования GGT/CPK, используемый с ветеринарным биохимическим анализатором skyla VB1, предназначен для количественного определения Гамма-глутамилтранспептидазы (GGT) и Креатинфосфокиназы (CPK) в плазме и сыворотке крови животных.

**2. Основные сведения**

Однотестовый картридж skyla для исследования GGT/CPK содержит сухие реагенты. Пользователю необходимо только поместить картридж на держатель и ввести разбавленную пробу в специальное отверстие для проб на картридже и вставить держатель в анализатор. Анализ будет автоматически выполнен в течение 10 минут. Более подробно устройство картриджа и держателя описана в Руководстве пользователя ветеринарного биохимического анализатора skyla VB1.

*Клиническая значимость*:

*Гамма-глутамилтранспептидаза (GGT):* GGT может быть использована для диагностики заболеваний печени, первичной и вторичной опухоли печени*.*

*Креатинфосфокиназа (CPK)*: CPK используется для диагностики мышечных травм, конвульсий, болезней сердца, гипотиреоза, перегрузок, отсутствия физической активности, снижения мышечной массы.

*Методы исследования*:

CPK

CPK определяется методом определения конечной точки ферментативной реакции. CPK катализирует реакцию креатинфосфата и ADP с образованием креатина и ATP. Затем гексокиназа катализирует реакцию глюкозы и ATP, образующих D-глюкозу-6-фосфат (G-6-P). В присутствии NAD, G-6-PD превращает G-6-P в 6-фосфоглюконат и NADH. Оптическая плотность может быть измерена на длине волны 340 нм в присутствии NADH и пропорциональна концентрации CPK.

 CPK

Креатинфосфат + ADP ──────→креатин + ATP

 гексокиназа

D-глюкоза + ATP ──────→D-глюкоза-6-фосфат + ADP

 G-6-PDH

D-глюкоза-6-фосфат + NAD ──────→6-фосфоглюконат+ NADH + H+

GGT

Активность GGT определяется путем ферментативной реакции.

GGT катализирует реакцию между L-γ-глутамил-3-карбокси-4-нитроанилидом и глицилглицином, в результате которой образуются L-γ-глутамил-глицилглицин и 5-амино-2-нитробензоат желтого цвета. The rate of liberation 5-амино-2-нитробензоата прямо пропорциональна активности GGT в пробе и количественно определяется путем измерения роста оптической плотности на длине волны 405 нм.

 GGT

L-γ-глутамил-3-карбокси-4-нитроанилид + глицилглицин ────→L-γ-глутамил-глицилглицин + 5-амино-2-нитробензоат

 GGT

L-аспартат + α-кетоглутарат ────→ амидацетат + L-глутамат

 MDH

Амидацетат + NADH ─────→малат + NAD+

**3. Реагенты**

*Состав реагентов*:

|  |  |
| --- | --- |
| Состав | Количество на 1 картридж; |
| ADP | 0,02 мг |
| Креатинфосфат | 0,29 мг |
| D-глюкоза | 0,1 мг |
| Гексокиназа | 0,11 ед. |
| G6PDH | 0,08 ед. |
| NAD | 0,04 мг |
| LNAC | 0,09 мг |
| Ацетат магния | 0,06 мг |
| L-аспарагиновая кислота | 0,5 мг |
| Малатдегидрогеназа | 0,04 ед. |
| NADH | 0,03 мг |
| α-кетоглутаровая кислота  | 0,08 мг |

*Хранение реагентов*:

* Однотестовый картридж следует хранить при температуре 2 - 8°C.
* Срок годности указывается на пакете с картриджем. Не используйте картриджи с истекшим сроком годности.

**4. Отбор и подготовка проб**

*Отбор проб*:

* С помощью картриджа для определения GGT/CPK skyla могут исследоваться плазма с литий-гепарином, сыворотка и контрольные материалы. Требуется 50 мкл пробы плазмы или сыворотки.
* Отбор и подготовка проб, а также дальнейшее обращение с ними должно производиться в соответствии со стандартными лабораторными процедурами и требованиями местного законодательства.

**Замечания:**

1. **Центрифугируйте пробы цельной крови в течение 2 часов после сбора (при комнатной температуре) для предотвращения осаждения фибрина в крови.**
2. **Не используйте образцы, содержащие другие коагулянты. Это приведет к ошибкам в результатах анализа.**

*Подготовка проб*:

* Перед внесением пробы в однотестовый картридж ее следует разбавить дилюентом. Используйте прилагаемый голубой дозатор на 50 мкл для внесения 50 мкл пробы (плазмы или сыворотки) в пробирку для разведения.
* После добавления пробы закройте плотно крышку пробирки и переверните пробирку 10 раз для обеспечения равномерности смешивания.

**Замечания:**

1. **Если при обращении с пробиркой для разбавления из нее выплеснется дилюент или образуется недостаток жидкости по какой-либо иной причине, не используйте эту пробирку и замените ее новой.**
2. **Выполняйте анализ в течение 10 минут после добавления пробы в однотестовый картридж (при комнатной температуре).**

Дополнительная информация по отбору и подготовке проб приводится в Руководстве пользователя ветеринарного биохимического анализатора skyla VB1.

**5. Процесс анализа**

*Условия проведения теста*:

Тесты следует выполнять при окружающей температуре 10 - 32°C. Продолжительность каждого теста около 10 минут. В процессе теста в реакционном отсеке анализатора поддерживается температура 37°C для стабильности анализа.

*Шаги выполнения теста*:

1. Откройте фольгированный пакет и достаньте однотестовый картридж.

2. Поместите картридж в прорезь на диске-держателе однотестовых картриджей. (На держателе могут располагаться максимум до 3 картриджей).

3. Поместите картридж-болванки в остальные прорези диска-держателя.

4. С помощью голубого микродозатора на 50 мкл добавьте за 2 приема из пробирки для разведения всего 100 мкл пробы в отверстие на однотестовом картридже.

5. С помощью безворсовой ткани удалите капельки пробы с внешней поверхности однотестового картриджа.

6. Поместите диск-держатель в реакционный отсек анализатора.

7. Нажмите кнопку “Start” (Пуск) на экране для начала анализа.

**Замечания:**

**1.Чтобы избежать ошибок в результатах тестов, никогда не применяйте использованные однотестовые картриджи в качестве болванок для держателя.**

**2. При обращении с реагентными дисками или анализатором надевайте лабораторные перчатки и прочие средства защиты во избежание инфицирования пробой.**

**3. Использованные картриджи, наконечники дозатора и ткань для протирки следует рассматривать как биологические отходы и обращаться с ними в соответствии с требованиями местного законодательства.**

**4. Анализ следует выполнять в течение 20 минут после вскрытия пакета.**

**5. Не храните однотестовые картриджи при температуре выше 25°C более 48 часов перед использованием.**

**6. Если картридж или его упаковка повреждены, или срок годности истек, не используйте диск.**

Более подробно рабочие шаги и настройка прибора приведены в Руководстве пользователя ветеринарного биохимического анализатора skyla VB1.

**6. Калибровка**

Штрих-код на каждом картридже содержит всю информацию необходимую для калибровки анализируемых показателей. Анализатор автоматически считает информацию штрих-кода в процессе анализа.

**7. Контроль качества**

* Подготовка и использование контрольных материалов описаны в соответствующих инструкциях. В случае расхождений с контрольными значениями рекомендуется выполнить проверочный тест на автоматическом лабораторном анализаторе или обратиться в службу технической поддержки.
* Материалы внешнего контроля качества можно использовать для проверки точности работы анализатора skyla VB1. Рекомендуем проводить контроль качества в следующих случаях:

- Не реже 1 раза в 30 дней;

- Перед использованием реагентов из новой партии;

- При перемещении анализатора или существенном изменении рабочих окружающих условий.

**8. Диапазон референсных норм**

В приведенной ниже таблице даны референсные нормы для каждого из показателей. Рекомендуется, чтобы каждая лаборатория или клиника устанавливала собственные референсные нормы для своих пациентов.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показатель  | Референсные нормы | Референсные нормы (единицы SI) |
| CPK | Собаки | 0 - 200 | ед./л | 0 - 200 | ед./л |
| Кошки | 0 - 314 | ед./л | 0 - 314 | ед./л |
| GGT | Собаки | 0 - 50 | ед./л | 0 - 50 | ед./л |
| Кошки | 0 - 48 | ед./л | 0 - 48 | ед./л |

**9. Ограничения**

К физиологически обусловленным мешающим факторам в крови относятся гемолиз, иктеричность и липемия. Для каждого из исследуемых показателей использовались сыворотки с известными концентрациями эндогенных веществ 2 уровней. Существенным было принято смещение результатов теста >20%.

|  |  |
| --- | --- |
| Показатель | Концентрация веществ с уровнем влияния менее 20% |
| Гемоглобин | Билирубин (несвязанный) | Билирубин (связанный) | Интралипиды |
| СРК | 700 мг/дл | 50,9 мг/дл | 51,3 мг/дл | 0,3% |
| GGT | 300 мг/дл | 42,1 мг/дл | 22,3 мг/дл  | 0,1% |

**10. Характеристики**

*Динамический диапазон:*

Диапазоны изменения для каждого из исследуемых показателей приведены ниже:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показатель  | Диапазон изменения | Диапазон изменения (ед. SI) |
| СРК | 40 -2400 | ед/л | 40-2400 | ед/л |
| GGT | 20 - 1000  | ед./л | 20 - 1000  | ед./л |

*Референсный метод*:

В качестве референсного метода исследования использовался SIЕMENS ADVIA 1800. Тесты выполнялись с использованием одних и тех же проб сыворотки для обоих методов.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Показатель  | R2  | Наклон  | Пересечение  | Количество проб  | Диапазон изменений  |
| CPK | Собаки | 0,9960 | 0,9931 | -0,0083 | 15 | 88-1027 ед./л |
| Кошки | 0,9971 | 0,9990 | -0,0025 | 12 | 121-1861ед./л |
| GGT | Собаки | 0,9990  | 0,9968  | 0,7497  | 38  | 22-803ед./л |
| Кошки | 0,9997  | 1,0033  | -0,9437  | 38  | 22-891 ед./л |

|  |
| --- |
| **Использованные символы** |
|  | Каталожный номер |  | При использовании смотри инструкцию |
|  | Код партии |  | Использовать до |
|  | Производитель |  | Знак соответствия европейским стандартам |
|  | Температурные пределы |  | Осторожно! |
|  | Не использовать повторно |  | Рассчитано на |

|  |  |
| --- | --- |
| Поставщик: | LITE-ON Technology Corporation H.S.P.B.  |
| Адрес: | No. 8, Dusing Road, Hsinchu Science Park, Hsinchu, Taiwan |
| Служба технической поддержки: | +886-3-611-8511 |
| Сайт: | www.skyla.com |

 Дата выпуска: 15.03.2016