

**γ-Glutamyl Transferase  
γ-ГЛУТАМИЛ ТРАНСФЕРАЗА  
КИНЕТИЧЕН МЕТОД****ЗА КОЛИЧЕСТВЕНО ИЗСЛЕДВАНЕ НА γ-GT В СЕРУМ****ПРИНЦИП НА МЕТОДА**

γ-GT

L- γ-glutamyl-p-nitroanilide + glycyglycine → p-nitroaniline + γ-glutamyl glycyglycine

Скоростта на освобождаване на p-nitroaniline е право пропорционална на активността на γ-GT и се изразява в числен вид като се измери нарастването на абсорбцията при 405 nm.

**РЕАГЕНТИ**

При разтваряне според инструкциите на опаковката реагентът съдържа:

γ-glutamyl-p-nitroanilide	4.79 mM
Glycyglycine	100mM
Tris	180mM при pH 8.2 ± 0.1

**ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ**

Реагентите са само за "ин витро" употреба. Трябва да се спазват обичайните предпазни мерки при работа с лабораторни реагенти. Не пипетирайте с уста. p-nitroaniline е токсичен и може да проникне през кожата. Избягвайте поглъщане и контакт с кожата.

**ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТИТЕ**

Разтворете с количеството вода, посочено на опаковката.

**СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ НА РЕАГЕНТИТЕ**

Съхранявайте реагентите при 2-8°C преди разтваряне. Реагентът може да се използва до изтичане на срока на годност, посочен на опаковката. Разтвореният реагент е стабилен 14 дни в хладилник (2-8°C)

Забележка: Може да се наложи да загреете реагента, след като е бил в хладилник, за да се разтвори отново до субстрат.

Реагентът трябва да бъде изхвърлен, ако в сухия реагент има образувани бучки или има други признаци за проникване на влага. Разтвореният реагент не трябва да се използва, ако абсорбцията, измерена при 405nm спрямо вода е по-висока от 0.85.

**СЪБИРАНЕ И СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИТЕ**

Вземете пълна кръв от вената и оставете да се съсират. Центрофугирайте и отделете серума. Ако не изследвате веднага, съхранявайте пробите в хладилник (2-8°C) или фризер (-20°C). Антикоагуланти, особено флуорид, оксалат и цитрат не трябва да се използват, тъй като те инхибират γ-GT активността. Според литературата γ-GT в серума е стабилна 8 часа при 25°C, три дни при 2-8°C и една седмица в замразено състояние при -20°C.

**ИНТЕРФЕРЕНЦИИ**

Антиконвулсанти (барбитурати, дилантин, фенитоин и т.н.) могат да причинят повишени нива на γ-GT.

**ПРОЦЕДУРА ЗА МАНУАЛНА РАБОТА**

1. Разтворете реагента според инструкциите.
2. Нулирайте спектрофотометъра с дестилирана вода при 405 nm.
3. Настройте кюветната температура на 30°C или 37°C.
4. Пипетирайте по 1.0ml от реагента в епруветките. Добавете 0.05ml (50µl) от контролата или пробата към реагента, смесете и веднага поставете в термокуветата.
5. Изчакайте 30 секунди и измерете абсорбцията през интервали точно от една минута в следващите две минути.
6. Изчислете средната разлика в абсорбция на минута (ΔAbs/min).
7. Умножете (ΔAbs/min) по фактор 2121, за да получите резултатите в IU/L.
8. Повторете процедурата за всяка проба.

Забележка: Пробите със стойности над 600 IU/L трябва да бъдат разредени 1:1 с физиологичен разтвор, тествани повторно и резултатите от тях да се умножат по 2.

**ИЗЧИСЛЕНИЯ**

$$IU/L = \frac{\Delta Abs/min \times 10^3 \times TV \times 1000}{\epsilon \times SV \times LP} = \frac{\Delta Abs/min \times 10^3 \times 1000 \times 1.05}{9.9 \times 10^3 \times 0.05 \times 1}$$

$$= \Delta Abs/min \times 2121$$

Където:

ΔAbs/min = средна разлика в абсорбцията на минута  
 $10^3$  = конверсия на милимолове в микромолове  
 TV = общ обем на реакцията  
 ε = милимолярна абсорбтивност на p-nitroaniline при 405 nm  
 LP = светлинен път (1cm)  
 SV = обем на пробата (1.0ml)

Пример: Ако ΔAbs/min = 0.010 то 0.010 x 2121 = 21.2 IU/L

Забележка: Ако някой от горепосочените параметри се промени, трябва да се изчисли нов фактор.

**ДЕФИНИЦИЯ НА ЕНЗИМНА ЕДИНИЦА**

1 IU γ-GT активност е количеството ензим, което пренася един микромол глутамат на минута на литър от пробата с едновременно освобождаване на 1 микромол p-nitroaniline при специфичните условия на процедурата.

**ОГРАНИЧЕНИЯ**

Процедурата е предназначена за измерване на γ-GT в серум, независимо от източника.

**ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ**

Мъже: 0-45 IU/L

Жени: 0-30 IU/L

Препоръчително е всяка лаборатория да установи свой диапазон на очаквани стойности.

**ХАРАКТЕРИСТИКИ НА ТЕСТА**

1. Линейност: 600 IU/L.
2. Чувствителност: 2.1 IU/L при резолюция на апарата от 0.001.
3. Сравнения: Изследване, сравняващо настоящия метод с подобен метод даде коефициент на корелация 0.98 и уравнение на регресията  $y = 0.96x + 0.39$ .
4. Точност:

	В серия		Между серии	
Средна стойн	20.2	65.9	21.8	65.4
Станд. откл.	1.7	8.4	1.5	2.8
C.V.(%)	8.4	3.8	6.8	4.3

REV:10/01

**Производител:** Teco Diagnostics, 1268 N. Lakeview Avenue, Anaheim, CA 92807 USA Tel. 714 693 7788 Fax: 714 693 3838

**Вносител:** "ЕТГ" ЕООД, София 1504, ул. Тракия №15, офис 1