

УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора

От _____ 20 ____ г.

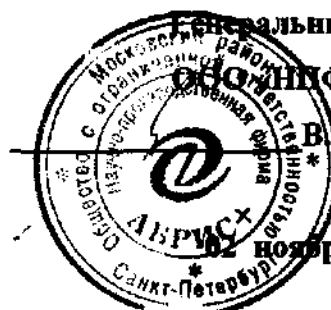
№ _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ООО «НПФ АБРИС+»

В.М. Марковский



ноября 2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ

**по применению набора реагентов для определения активности
аланинаминотрансферазы в сыворотке крови колориметрическим методом
(«АЛТ-АБРИС+»)**

1.Назначение

Набор предназначен для количественного определения активности аланинаминотрансферазы в сыворотке колориметрическим методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 1000 определений при конечном объеме пробы 3,0 мл.

2.Характеристика набора.

2.1.Принцип метода

L-аланин + α -кетоглутарат $\xleftarrow{\text{АЛТ}}$ пируват + L-глутамат

Количество образовавшегося в ходе ферментативной реакции пирувата определяется на основе его реакции с 2,4-динитрофенилгидразином (2,4-ДНФГ), результатом которой является окрашенный комплекс, имеющий максимум поглощения при длине волны 540 нм.

Инструкция составлена директором по науке ООО «НПФ АБРИС+», к.б.н. Ю.Г.Поповым и заведующим кафедрой клинической лабораторной диагностики СПбМАПО, д.м.н., профессором А.В.Козловым.

2.2. Состав набора

В состав набора реагентов входят следующие компоненты:

- Реагент 1 [L-аланин- 100 ммоль/л; Na_2HPO_4 , 100 ммоль/л; α -кетоглутаровая кислота- 15 ммоль/л] - готов к применению - 1 флакон 250 мл;
- Реагент 2 [2,4 динитрофенилгидразин – 1 ммоль/л; кислота соляная, 100 ммоль/л] - готов к применению - 1 флакон 250 мл;
- калибратор [пируват натрия – 1 ммоль/л] – готов к применению - 1 флакон, 5,0 мл.
- Реагент 3 [натрий едкий – 4 моль/л] - перед применением равести дистиллированной водой в 10 раз - 1 флакон 250 мл;

3. Аналитические и диагностические характеристики набора.

3.1. Линейность

Линейная область определения активности АЛТ в диапазоне от 0,1 до 4,0 ммоль/л в час, отклонение от линейности не более 5%.

3.2. Воспроизводимость

Коэффициент вариации результатов определений - не более 5%.

3.3. Нормальные величины: 0,12 – 0,68 ммоль/л в час.

4. Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2а (ГОСТ Р 51609-2000).

При работе с набором необходимо соблюдать "Правила 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 биологическими жидкостями следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы биологических жидкостей человека являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять или передавать возбудителей различных инфекций.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

5. Оборудование, материалы и реагенты

- спектрофотометр, длина волны 540 нм, кювета с длиной оптического пути 1,0 см;
- секундомер;
- термостат, поддерживающий температуру $37 \pm 1^\circ\text{C}$;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с фиксированным или переменным объемом со сменными наконечниками;
- перчатки хирургические резиновые или пластиковые.

6. Анализируемые пробы

Сыворотка крови. Гемолиз недопустим. Исследование должно быть проведено в день забора образца, так как активность АЛТ снижается независимо от температуры хранения.

7. Проведение анализа

Реагент 3 следует развести бидистиллированной водой, свободной от карбонатов, в соотношении 1:9. Полученный 0,4 моль/л раствор NaOH хранить в пластиковой герметичной таре.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА:

Поместить в пробирки	Опытная проба, мл	Контроль на реактивы для пробы, мл	Калибратор, мл	Контроль на реактивы для калибратора, мл
Реагент 1	0,25	0,25	—	—
Сыворотка крови	0,05	—	—	—
Смешать и инкубировать в водяной бане при 37 °С 30 мин				
Калибратор	—	—	0,05	—
Вода дистиллиров.	—	—	0,25	0,3
Реагент 2	0,25	0,25	0,25	0,25
Сыворотка крови	—	0,05	—	—
Смешать и инкубировать при 18-25 °С 20 мин				
0,4 моль/л NaOH	2,5	2,5	2,5	2,5
Смешать и инкубировать при 18-25 °С 5 мин				
$\lambda = 540 \text{ нм};$ $d = 1 \text{ см};$ Измерить оптическую плотность пробы ($E_{\text{пробы}}$) и калибратора ($E_{\text{калибратора}}$) против соответствующих контролей на реактивы. Окраска стабильна не менее 30 минут после окончания инкубации при предохранении от прямого солнечного света. При активности АЛТ, превышающей 4 ммоль/л в час, образец следует развести физиологическим раствором. При расчете активности учесть степень разведения.				

8. Расчеты:

$$\text{ммоль/л в час} = 2 \times \frac{E_{\text{пробы}}}{E_{\text{калибратора}}}$$

9. Условия хранения и эксплуатации набора

Срок годности набора - 12 месяцев.

Хранение наборов в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться в темном месте при температуре 18-25°С в течение всего срока годности.

Для проведения процедуры анализа рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов дозирования.

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

По вопросам, касающимся качества набора, обращаться в ООО «НПФ АБРИС+» по адресу: 196135, Россия, Санкт-Петербург, а/я 355; 196143, Россия, С.Петербург, пр. Гагарина, 65 ; тел./факс:(812) 727-24-40, 727-88-18; e-mail: abris@abrisplus.ru; <http://www.abrisplus.ru>.

Д.м.н., профессор

А.В.Козлов

Директор по науке
ООО «НПФ АБРИС+», к.б.н.

Ю.Г.Попов

«СОГЛАСОВАНО»

Заведующий кафедрой клинической
лабораторной диагностики
ГОУ ДПО «РМАПО Минздравсоцразвития»
д.м.н., профессор

В.В. Долгов

