

«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор Управляющей компании
ООО «Эйлитон-менеджмент»
Шибанов А.Н.
_____ 2016 г.



ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов для определения активности
аланинаминотрансферазы
в сыворотке и плазме крови человека кинетическим методом
«АЛТ - UTS»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для определения активности аланинаминотрансферазы в сыворотке и плазме крови человека кинетическим методом «АЛТ-UTS» предназначен для количественного определения активности аланинаминотрансферазы в сыворотке и плазме крови человека кинетическим методом для *in vitro* диагностики.

1.2. Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

1.3. Предназначенный пользователь - сотрудники клинико-диагностических лабораторий, прошедшие соответствующую профессиональную подготовку.

1.4. АЛТ – это внутриклеточный фермент, который в больших количествах присутствует в цитоплазме клеток печени и почек, а также в эритроцитах [1,2]. Повышение активности АЛТ в крови часто используется как показатель повреждения печени.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

2.1. Компоненты набора и их состав:

Наименование	Состав	Концентрация
Реагент 1 (P1)	ТРИС Лактатдегидрогеназа L-Аланин	150 ммоль/л >1350 Е/л 750 ммоль/л pH 7,3
Реагент 2 (P2)	НАДН α -Кетоглутарат Натрия азид	1,3 ммоль/л 75 ммоль/л <0,1% pH 10,0

2.2. Количество анализируемых проб биологического материала зависит от варианта исполнения и от выбранного объема фотометрирования (см. раздел «Информация для заказа»). При расходе 1 мл реагентов на одно определение набор рассчитан на проведение 100 (кат. №№ АЛТ-100 и АЛТ-101-ЮЛ); 180 (кат.№№ АЛТ-183-АЛ), 400 (кат.№№ АЛТ-

400 и АЛТ-401-ЮЛ) или 720 (кат.№ АЛТ-723-АЛ) определений активности аланинаминотрансферазы.

2.3. Принцип метода. АЛТ относится к классу аминотрансминаз и катализирует реакцию переноса аминогруппы с аланина на кетоглутарат, образуя пируват и глутамат (1).

Метод определения активности АЛТ основан на проведении двух стадий ферментативных реакций. В реакционной смеси присутствуют субстраты фермента АЛТ – L-аланин и α -кетоглутарат. В результате первой ферментативной реакции образуются глутамат и пируват. Затем в присутствии лактатдегидрогеназы (ЛДГ) происходит восстановление образовавшегося пирувата до лактата за счет окисления НАДН (2).



Если скорость второй реакции существенно больше скорости первой (при высокой активности ЛДГ в реагенте), то скорость окисления НАДН будет прямо пропорциональна активности АЛТ. Измерение скорости уменьшения концентрации НАДН осуществляется фотометрически при длине волны 340 нм [3].

2.4. Набор реагентов «АЛТ-UTS» разработан на основе стандартного кинетического УФ-метода, рекомендованного Международной Федерацией Клинической Химии и Лабораторной Медицины (*метод IFCC без пиридоксаль-5-фосфата*).

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Набор обеспечивает линейный диапазон определения активности АЛТ от 3 до 500 Е/л. Отклонение от линейности во всем указанном диапазоне не превышает 5%.

3.2. Чувствительность – не более 3 Е/л.

3.3. Воспроизводимость - коэффициент вариации результатов определений – не более 5% (при использовании соответствующих технических средств выполнения методики, см. п. 5).

3.4. **Нормальные величины активности АЛТ в сыворотке или плазме взрослого человека составляют: у мужчин от 10 до 40 Е/л, у женщин от 7 до 35 Е/л [2].**

Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить диапазон нормальных величин активности АЛТ у исследуемого контингента пациентов.

3.5. Активность АЛТ в сыворотке или плазме крови не может использоваться в качестве единственного показателя для диагностики заболеваний, но используется в сочетании с другими лабораторными показателями и другой диагностической информацией.

3.6. Специфичность (влияние интерферентов на результаты анализа): билирубин до 684 мкмоль/л, гемоглобин до 4 г/л, липемия до 2,3 ммоль/л триглицеридов не влияют на результаты анализа.

3.7. Перечень лекарственных препаратов, влияющих на определение активности АЛТ, приведен в обзоре [4].

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

4.2. При выполнении лабораторного исследования следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г. и в методических указаниях МУ 287-113.

4.3. При работе с изделием должны использоваться средства индивидуальной защиты (халат, шапочка, одноразовые резиновые или пластиковые перчатки).

4.4. Реагент 2 содержит азид натрия в концентрации менее 0,1 г/л. Не глотать! Следует избегать попадания реагентов на кожу и слизистые оболочки. В случае попадания их на кожу и слизистые оболочки необходимо промыть поражённые участки большим количеством проточной воды.

4.5. Смешивание реагентов набора с веществами, не упомянутыми в инструкции по применению набора, не допускается.

4.6. При работе с изделием следует соблюдать требования СП 1.3.2322, ГОСТ Р 52905.

Инструменты и оборудование, а также поверхности, на которых проводилась работа с использованием набора, должны быть обработаны раствором этилового спирта с объемной долей 70 % в течение нескольких секунд.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Для выполнения анализа активности АЛТ с применением набора реагентов «АЛТ-UTS» рекомендуется использовать:

1) полуавтоматический, автоматический биохимический анализатор или фотометр, позволяющие выполнять измерение скорости изменения оптической плотности при длине волны 340 нм (кинетический режим) и обеспечивающие термостатирование фотометрической ячейки при температуре $+(37 \pm 0,2) ^\circ\text{C}$.

2) перчатки резиновые или пластиковые;

- 3) таймер-секундомер (при отсутствии данной функции у анализатора или фотометра);
- 4) дозаторы полуавтоматические одноканальные с переменным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 50 и 1000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (суммарная погрешность не более 1%);
- 5) цилиндр мерный для приготовления рабочего реагента.
- 6) физраствор (0,9% NaCl).
- 7) мультикалибратор и контрольные сыворотки, аттестованные по значению активности АЛТ методом IFCC без пиридоксальфосфата.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

- 6.1. Негемолизированная сыворотка или плазма крови (ЭДТА или гепаринизированная).
- 6.2. Сыворотку или плазму крови следует отделить от форменных элементов крови не позднее, чем через 1 час после взятия крови.
- 6.3. Образцы сыворотки или плазмы стабильны не более 7 суток при температуре от +2 до +8 °С и не более 1 месяца при -20°С. Повторное замораживание не допускается. [3].

7. ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

При использовании полуавтоматического анализатора или фотометра:

- 7.1 **Приготовление рабочего реагента.** Смешать Реагент 1 и Реагент 2 в соотношении 4 : 1. Полученный раствор рабочего реагента стабилен 4 недели при температуре 2–8 °С или в охлаждаемом отсеке биохимического анализатора (при температуре 8–15 °С) – не более 1 недели.
- 7.2. Оптическая плотность рабочего реагента при длине волны 340 нм должна составлять $1,5 \div 2,2$ единиц оптической плотности (Б), при использовании кювет с длиной оптического пути 10 мм.
- 7.3. Раствор рабочего реагента прогреть до температуры $(37 \pm 0,2)$ °С.

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

8.1. При использовании полуавтоматического анализатора или фотометра:

Отобрать компоненты реакционной смеси с использованием пипеточных дозаторов в объемах, указанных в таблице:

Наименование компонента	V = 1 мл	V = 0,5 мл	V = 0,2 мл
Рабочий реагент, объем	1000 мкл	500 мкл	200 мкл
Сыворотка (плазма) крови, калибратор или	50 мкл	25 мкл	10 мкл

контрольный материал, объем			
Пробы перемешать.			
Инкубировать в течение 1 мин при температуре $(37 \pm 0,2)$ °C, затем измерить оптическую плотность при длине волны 340 нм.			
Измерения повторить ровно через 1, 2, 3 мин.			

8.2. При использовании биохимических анализаторов с другим фотометрическим объемом кювет необходимо пересчитать объем используемого рабочего реагента, исходя из соотношения пробы к рабочему реагенту, равного 1:20.

8.3. При использовании автоматического биохимического анализатора в зависимости от объема реакционной смеси ввести в программу анализатора одну из методик:

Запуск реакции образцом:

Наименование пункта программы	V = 0,5 мл	V = 0,2 мл
Реагент 1, объем	400 мкл	160 мкл
Реагент 2, объем	100 мкл	40 мкл
Сыворотка (плазма) крови, калибратор или контрольный материал, объем	25 мкл	10 мкл
Температура реакции, °C	37	
Длина волны, нм	340	
Время инкубации, мин	1	
Время измерений, мин	3	

Запуск реакции реагентом 2:

Наименование пункта программы	V = 0,5 мл	V = 0,2 мл
Реагент 1, объем	400 мкл	160 мкл
Сыворотка (плазма) крови, калибратор или контрольный материал, объем	25 мкл	10 мкл
Время инкубации (P1+ проба), мин	5	
Реагент 2, объем	100 мкл	40 мкл
Время инкубации (P1+ проба+ P2), мин	1	
Время измерений, мин	3	
Длина волны, нм	340	

При использовании фотометрической ячейки другого объема необходимо пересчитать объемы реагентов, исходя из соотношения P1 : P2 : Проба, равного 16 : 4 : 1.

Адаптации к автоматическим анализаторам можно получить дополнительно(см. п. 13.3).

9. РАСЧЕТЫ

9.1. Рассчитать по 3 периодам измерений среднее значение изменения оптической плотности в минуту (ΔD_{cp}).

9.2. **Фактор (F)** набора при использовании кювет с длиной оптического пути 1 см и температуре 37 °C составляет **-3300**.

При использовании полуавтоматических и автоматических биохимических анализаторов следует провести предварительную калибровку с помощью мультикалибратора, при которой автоматически рассчитывается экспериментальное значение фактора F_k по формуле:

$$F_k = A_k / \Delta D_k.$$

где A_k – значение активности АЛТ в мультикалибраторе, Е/л

ΔD_k – среднее значение изменения оптической плотности пробы с мультикалибратором, Б/мин

9.3. **Результат анализа** - активность аланинаминотрансферазы в пробе А (в Е/л) - рассчитывается по формуле:

$$A = F \times \Delta D_{cp}$$

9.4. Если результат определения активности АЛТ превышает 500 Е/л, то следует разбавить пробу физраствором (0,9% NaCl) в 10 раз и повторно провести измерение, а полученный результат умножить на 10.

10. УСЛОВИЯ ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор следует применять согласно Инструкции по применению, утверждённой в установленном порядке.

10.2. **Реагенты 1 и 2 после вскрытия** следует хранить при температуре 2–8 °C в плотно закрытых флаконах в темном месте в течение 6 месяцев, с соблюдением мер против контаминации при использовании.

10.3. **Рабочий реагент после приготовления** следует хранить в плотно закрытом виде в защищенном от света месте при температуре 2–8 °C не более 4 недель или в охлаждаемом отсеке биохимического анализатора (при температуре 8–15 °C) – не более 1 недели.

10.4. Допускается **хранение в охлаждаемом отсеке биохимического анализатора** (при температуре 8–15 °С) закрытых крышками емкостей с реагентами при обязательной маркировке емкостей, содержащей сведения о названии реагента, номере серии и дате вскрытия и обязательном соблюдении температурного режима хранения. Срок хранения вскрытых флаконов с реагентами в этих условиях составляет 1 месяц.

10.5. При появлении признаков контаминации, загрязнения реагентов, а также при показаниях оптической плотности рабочего реагента менее 1 Б (в кювете с длиной оптического пути 1 см при длине волны 340 нм) следует утилизировать реагенты как указано ниже.

10.6. Контроль качества измерений можно провести с помощью контрольных сывороток, аттестованных по значению активности АЛТ (IFCC методом без пиридоксаль-5-фосфата) в соответствие с ГОСТ Р 53133.2-2008.

10.7. При появлении результатов, выходящих за допустимые пределы по контрольной карте анализатора или паспорту контрольного материала, следует провести проверку анализатора, дозаторов и произвести новую калибровку по сывороточному калибратору (см. п.8.4-8.5).

10.8. Необходимо проводить повторную калибровку при получении набора реагентов новой серии. Смешивание реагентов набора с веществами, не упомянутыми в инструкции по применению набора, не допускается. Запрещается смешивать между собой реагенты разных серий.

11. ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ НАБОРА

11.1. Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта с соблюдением условий и требований, установленных на данном виде транспорта, при температуре 2–8 °С. Допускается транспортирование наборов при температуре до 25 °С не более 10 суток. Замораживание компонентов набора не допускается.

11.2. Хранение наборов в упаковке предприятия-изготовителя должно осуществляться при температуре 2–8 °С в течение всего срока годности в холодильниках или холодильных камерах, обеспечивающих регламентируемый температурный режим с ежедневной регистрацией температуры. Замораживание наборов не допускается.

12. УТИЛИЗАЦИЯ НАБОРА

12.1. Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию изделия следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790 и ГОСТ 51088.

12.2. Твердые отходы (упаковка), промывные растворы должны быть собраны в специальном контейнере и затем обработаны раствором перекиси водорода по ГОСТ 177 с массовой долей 6 % при комнатной температуре не менее 3 ч. Далее утилизировать как медицинские отходы класса Б.

12.3. Неиспользованные изделия с истекшим сроком годности, включая неиспользованный рабочий реагент, следует разбавить водой в соотношении 1 : 100 или более, слить раствор в промышленную канализацию и вывезти остатки упаковок как производственный или бытовой мусор.

13. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

13.1. Срок годности набора – 12 месяцев со дня приёмки ОТК предприятия-изготовителя при соблюдении условий эксплуатации, хранения и транспортировки.

13.2. Информация о производителе:

Производится ООО «Эйлитон» по заказу ЗАО «А/О Юнимед».

Адрес производства: 141983, Московская обл., г. Дубна, ул. Программистов, д. 4, стр. 2, пом. 29.

13.3. По вопросам, касающимся качества набора «АЛТ-UTS», следует обращаться в ЗАО «А/О ЮНИМЕД» по адресу: 129301, Москва, ул. Касаткина, 3а; Тел. (495) 734-91-31, 8-800-333-91-31, Факс: (495) 564-86-41;

E-mail: office@unimeda.ru; <http://www.unimeda.ru>.

Список литературы

1. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
2. "Клиническое руководство по лабораторным тестам" под ред. Н.Тица, 3е издание. (М., Юнимед-Пресс, 2003).
3. Murray R. Alanin aminotransferase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1088-1090.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
5. ГОСТ Р 53133.2-2008. Технологии лабораторные клинические. Контроль качества клинических лабораторных исследований. Часть 2. Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов.
6. МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения», утв. департаментом Госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998 г.

Набор АЛТ-UTS разрешен к производству, продаже и применению на территории РФ.

Регистрационное удостоверение № ФСР 2009/05454.

ТУ 9398-012-59879815-2016.

Информация для заказа набора «АЛТ-UTS»

Кат. № варианта исполнения	Количество определений*	Фасовка (кол-во флаконов × объем реагента во флаконе, мл)	
		Реагент 1	Реагент 2
АЛТ-100	100/V	1 × 80	1 × 20
АЛТ-400	400/V	4 × 80	1 × 80
АЛТ-101-ЮЛ**	100/V	3 × 26,6	1 × 20
АЛТ-401-ЮЛ**	400/V	10 × 32	4 × 20
АЛТ-183-АЛ**	180/V	3 × 48	2 × 18
АЛТ-723-АЛ**	720/V	12 × 48	8 × 18

* V – фотометрический объем ячейки анализатора в мл.

** для фасовки используются системные флаконы для автоматических биохимических анализаторов

Ведущий инженер-химик
ООО «Эйлитон»

Л.В. Лукачева

«СОГЛАСОВАНО»

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

«__» _____ 2017 г.



П.К. Варнавичус

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 9 ЛИСТОВ

«16» ЯНВАРЯ 2017 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.

