

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

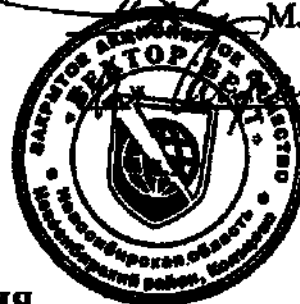
от _____ 20__ г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ЗАО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов



20__ г.

ИНСТРУКЦИЯ

**по применению Набора реагентов для определения активности
аланинаминотрансферазы в сыворотке и плазме крови кинетическим УФ – методом
(АЛТ-УФ-НОВО жидкая форма)**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов **АЛТ-УФ-НОВО жидкая форма** предназначен для количественного определения активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) в сыворотке и плазме крови человека кинетическим УФ – методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях.

1.2. Набор рассчитан, в зависимости от варианта комплектации, на проведение 100 (вариант 1) или 500 (вариант 2) определений при расходе 1,0 мл рабочего раствора реагентов на одно определение.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

АЛТ катализирует перенос аминогруппы от L-аланина на α -кетоглутарат с образованием глутамата и пирувата. В присутствии лактатдегидрогеназы пируват восстанавливается с образованием лактата. Одновременно происходит окисление эквивалентного количества β -никотинамидадениндинуклеотида (β -NADH), в результате чего происходит уменьшение оптической плотности при длине волны 340 нм. Уменьшение оптической плотности пропорционально активности АЛТ.

2.2. Состав набора

Набор может поставляться в двух вариантах комплектации (варианты 1 и 2).

Инструкция составлена сотрудниками ЗАО «Вектор-Бест»: нач. отдела биохимии, к.б.н. Л.В. Гаевой, нач. участка Е.А. Курбатовой.

ЭЛЕКТРОННАЯ КОПИЯ ОФОРМЛЕНА ЦЕНТРОМ ИСПЫТАНИЙ И РЕГИСТРАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

Иммунал

10.06.20__

14.06

В состав набора входят:

– реагент 1 – раствор, содержащий трис, 138 ммоль/л; L-аланин, 688 ммоль/л; лактатдегидрогеназу, 3300 Е/л; натрия азид, 0,05%; тритон X-100, 0,01%; pH 7,7±0,1 – 2 флакона (по 40 мл) (вариант 1) или 2 флакона (по 200 мл) (вариант 2);

– реагент 2 – раствор, содержащий натрий углекислый, 5 ммоль/л; калий углекислый, 5 ммоль/л; β-NADH, 1,16 ммоль/л; α-кетоглутарат натрия, 82,5 ммоль/л; натрия азид, 0,05%; pH 10,5±0,1 – 2 флакона (по 10 мл) (вариант 1) или 2 флакона (по 50 мл) (вариант 2).

Конечные концентрации компонентов в рабочем растворе реагентов:

- L-аланин – 0,55 моль/л;
- β-NADH – 0,231 ммоль/л;
- лактатдегидрогеназа – 2640 Е/л;
- α-кетоглутарат натрия – 16,5 ммоль/л;
- натрия азид – 0,05%;
- трис – 0,11 моль/л;
- тритон X-100 – 0,008%.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Линейность. Линейная область определения активности аланинаминотрансферазы – в диапазоне от 20 до 400 Е/л. Отклонение от «линейности» – не более 5%.

3.2. Чувствительность определения – не более 16 Е/л.

3.3. Коэффициент вариации результатов определений – не более 5%.

3.4. Клиническая проверка. Активность АЛТ измеряли в сыворотке и плазме крови, взятой с 9 до 10 ч, у 120 здоровых мужчин и женщин в возрасте от 20 до 50 лет, жителей юго-восточного региона Западной Сибири. Активность АЛТ составила у женщин от 20 до 31 Е/л, у мужчин от 20 до 40 Е/л.

3.5. Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить диапазон нормальных величин активности АЛТ для обследуемого контингента людей.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

4.2. Реагенты содержат токсическое соединение – натрия азид. При работе с реагентами и рабочим раствором реагентов следует избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания указанных растворов на кожу и слизистые необходимо промыть пораженные участки большим количеством проточной воды.

4.3. 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.).

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатитов или любой другой возбудитель вирусных инфекций.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- Спектрофотометр или фотометр (длина волны 340 нм, термостатируемая кювета с длиной оптического пути 10 мм);
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 100 и 1000 мкл;
- пробирки стеклянные вместимостью 5,0-10 мл;
- термостат, поддерживающий температуру $+37 \pm 0,5$ °C;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- секундомер;
- вода дистиллированная;
- физиологический раствор (0,9 % NaCl).

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Свежая негемолизированная сыворотка или плазма крови.

Сыворотку и плазму крови можно хранить при температуре $+2-8$ °C не более 3 сут; активность АЛТ снижается после 3 дней хранения при температуре $+2-8$ °C на 10%.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Приготовление рабочего раствора реагентов

Содержимое одного флакона с реагентом 1 объединить с содержимым одного флакона с реагентом 2. Перемешать вручную.

Приготовленный рабочий раствор реагентов можно хранить в плотно закрытом виде при температуре $+2-8$ °C не более 1 мес или при комнатной температуре ($+18-25$ °C) не более 6 ч.

7.2. Перед началом работы рабочий раствор реагентов нагреть до температуры +37 °С.

7.3. Внести в термостатируемую кювету фотометра, поддерживающую температуру +37 °С, 1000 мкл рабочего раствора реагентов, добавить 100 мкл анализируемой сыворотки или плазмы крови, тщательно перемешать и включить секундомер.

Примечание. В зависимости от объема используемой кюветы количество рабочего раствора реагентов и анализируемого образца может быть пропорционально изменено (соотношение образца к рабочему раствору реагентов составляет 1:10).

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Через 1 мин измерить оптическую плотность при длине волны 340 нм против воздуха. Повторить измерения 3 раза с интервалом времени 1 мин (точно!).

9. РАСЧЁТЫ

Рассчитать изменение оптической плотности за 1 мин (ΔE /мин) по формуле:

$$\Delta E / \text{мин} = \Delta E_n / t,$$

где: ΔE_n – изменение оптической плотности, ед. опт. плотн.;

t – интервал времени между измерениями, мин.

Активность АЛТ в анализируемом образце определить по формуле:

$$A = (\overline{\Delta E / \text{мин}}) \times F,$$

где: A – активность АЛТ, Е/л;

F – фактор пересчета для выражения активности аланинаминотрансферазы в Е/л ($F=1768$).

Примечание. 1 Е/л = 16,67 ммоль / (л×с)

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор реагентов АЛТ-УФ-НОВО жидкая форма должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности (1 год). Допускается хранение набора при температуре до +25 °С не более 7 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.2. Рабочий раствор реагентов можно хранить в плотно закрытом виде при температуре +2-8 °С не более 1 мес или при комнатной температуре (+18-25 °С) не более 6 ч.

10.3. Для проведения анализа использовать свежую сыворотку или плазму крови без следов гемолиза.

10.4. Качество набора может проверяться по отечественным и зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

10.5. В том случае, когда величина активности АСТ в анализируемых образцах превышает 400 Е/л, образец следует развести физиологическим раствором в 10 раз (20 мкл исследуемого образца + 180 мкл физиологического раствора), повторить анализ и полученный результат умножить на 10.

10.6. Для отбора и добавления анализируемых проб и компонентов набора рекомендуется использовать полуавтоматические пипетки со сменными наконечниками, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования.

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

По вопросам, касающимся качества набора АСТ-УФ-НОВО жидкая форма, следует обращаться в ЗАО «Вектор-Бест» по адресу:

630559, Новосибирская область, Новосибирский район, п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 227-67-64, 227-75-50, тел./факс (383) 336-73-46

и в Лабораторный Центр ФГУ «НЦ ЭСМП» Росздравнадзора по адресу:
117246, Москва, Научный проезд, д. 14А, тел. (499) 120-60-95; 120-60-96.

Начальник участка
ЗАО «Вектор-Бест»



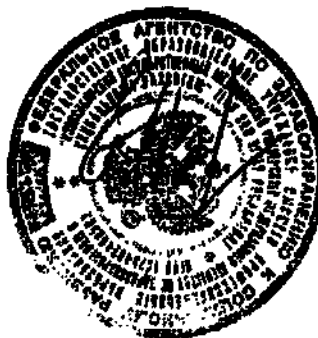
Е.А. Курбатова

Начальник отдела, к.б.н.
ЗАО «Вектор-Бест»



Л.В. Гаева

Проректор ГОУ ВПО НГМУ Росздрава
по лечебной работе, д.м.н., профессор
М.П.



Е.Л. Потеряева