



HOSPITEX DIAGNOSTICS

лабораторное оборудование и реагенты

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 200 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный Директор ООО «Хоспитекс Диагностика»

К.А.Константинов

3 августа 2009 г.

М.п.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения активности аланинаминотрансферазы

ПРИНЦИП МЕТОДА

Фермент аланинаминотрансфераза (L-аланин: 2-оксоглутарат аминотрансфераза; К.Ф. 2.6.1.1) – АЛАТ или АЛТ, катализирует обратимый перенос аминокрупп с L-аланина на α -кетоглутаровую кислоту с образованием пирувата. Из пирувата под действием фермента ЛДГ (лактатдегидрогеназа) образуется лактат, при этом НАДН переходит в окисленную форму НАД. Скорость окисления НАДН прямо пропорциональна активности аланинаминотрансферазы и измеряется фотометрически при длине волны 340 нм.

СОСТАВ НАБОРА

Реагент R1: буферно-ферментный раствор (2х40 мл, 4х40 мл, 2х40 мл)

L-аланин.....500 ммоль/л

Трис буфер, pH 7,5.....100 ммоль/л

ЛДГ..... ≥ 1700 Ед/л

Реагент R2: раствор кофактора и субстрата (2х10 мл, 4х10 мл, 8х10мл)

α -кетоглутарат.....15 ммоль/л

НАДН.....0,18 ммоль/л

Стабилизаторы и консерванты

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Набор обеспечивает линейную область определения активности аланинаминотрансферазы в диапазоне от 10 до 440 Ед/л, отклонение от линейности не превышает 5%. Чувствительность не более 5 Ед/л, коэффициент вариации результатов определения – не более 5%.

Качество набора можно оценивать по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

Нормальные величины активности аланинаминотрансферазы в сыворотке крови человека составляют от 3 до 35 Ед/л.

Рекомендуется в каждой лаборатории установить свой диапазон нормальных величин.

ОБРАЗЦЫ

Сыворотка крови без гемолиза. Сыворотку следует отделить от форменных элементов крови не позднее, чем через 1 час после забора крови. Активность АЛТ стабильна в течение 4 дней при 2 – 8°C или 1 месяц при -20°C.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Реагенты R1 и R2 содержат азид натрия. Не допускать попадания на кожу и слизистые. 2. Обычные меры предосторожности, принимаемые при работе с лабораторными реактивами. Не пипетировать ртом; при проглатывании следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

- спектрофотометр или фотоэлектроколориметр, длина волны 340 нм, кювета с длиной оптического пути 1 см;

- секундомер;

- пипетки, позволяющие отбирать объемы 100 и 1000 мкл;

- коническая колба вместимостью 100 мл;

- вода дистиллированная;

- 0,9% раствор NaCl (физиологический раствор).

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Приготовление рабочего реагента: смешать в конической колбе вместимостью 100 мл 4 объема реагента R1 и 1 объем реагента R2. Тщательно закрыть флаконы с реагентами R1 и R2 непосредственно после каждого использования.

Рабочий реагент стабилен в течение 2 недель при хранении при температуре 2-8 °C

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Рабочий реагент: 1000 мкл

Пробирки с рабочим реагентом необходимо предварительно прогреть в течение 5 минут при



HOSPITEX DIAGNOSTICS

лабораторное оборудование и реагенты

37 °С.

Проба 100 мкл

Смешайте и инкубируйте в течение 90 секунд при 37 °С, затем измерьте оптическую плотность 3 раза с интервалом в 1 минуту. Рассчитайте изменение оптической плотности за 1 минуту ($\Delta\text{ОП}/\text{мин}$)

Примечание: При использовании автоматических или полуавтоматических биохимических анализаторов количество реагентов и анализируемых образцов в зависимости от объема используемой кюветы может быть пропорционально изменено (соотношение образца к рабочему реагенту составляет 1:10).

Активность аланинаминотрансферазы определить по формуле:

$$A = \Delta\text{ОП} / \text{мин} \times 1746, \text{ где}$$

A – активность аланинаминотрансферазы, Ед/л;

$\Delta\text{ОП}/\text{мин}$ – изменение оптической плотности пробы за одну минуту, ед. опт. пл.;

1746 – фактор пересчета для выражения активности аланинаминотрансферазы в Ед/л (указывается в паспорте на набор)

Примечание: 1 Ед/л $\times 0,0167 = \text{мкКат/л}$

РАСЧЕТ

Хранение наборов должно производиться в темном месте при температуре + 2-8 °С в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Замораживание компонентов набора не допускается.

Срок годности набора – 18 месяца.

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов могут храниться при температуре +2-8 °С в темном месте в течение всего срока годности наборов при условии достаточной герметичности флаконов.

Рабочий реагент необходимо хранить при температуре +2-8 °С в течение 2 недель в защищенном от света месте.

Если $\Delta\text{ОП}/\text{мин}$ больше или равно 0,200, разведите образец 1+9 физиологическим раствором для повторного разведения, а результат умножьте на 10.

Для получения надежных результатов необходимо строго соблюдать инструкцию по применению набора.

По всем вопросам касающимся набора следует обращаться в ООО «Хоспитекс Диагностика» по адресу: 121552, г. Москва, а/я 43, тел/факс (495) 646-0505

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Начальник производства

М.Е.Мещерский

Главный врач ФГУ РКНПК Росмедтехнологий

В.К.Ситина

