

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора
от _____ 2010 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ООО "Ольвекс Диагностикум"



С.Н. Чавкин

2010 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения активности
аланинаминотрансферазы в сыворотке или плазме крови
оптимизированным энзиматическим кинетическим методом
(АЛТ-ОЛЬВЕКС)

(Взамен инструкции, утвержденной 21.05.2001 г.)

Назначение

Набор АЛТ-ОЛЬВЕКС предназначен для количественного определения активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) в сыворотке или плазме крови человека в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и в научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 100, 200 или 1000 определений при расходе 0,5 мл рабочего реагента на один анализ.

Принцип метода

Кинетическое спектрофотометрическое определение активности АЛТ основано на регистрации уменьшения оптической плотности анализируемого образца при длине волны 340 нм в результате проведения следующих реакций:

L-аланин + α -кетоглутарат АЛТ пируват + L-глутамат

Пируват + NADH + H⁺ ЛДГ D-лактат + NAD

Образующийся в первой реакции пируват окисляет далее NADH в присутствии лактат-дегидрогеназы (ЛДГ), что сопровождается уменьшением оптической плотности при длине волны 340 нм, и это уменьшение пропорционально активности АЛТ в пробе.

Состав набора

В состав набора реагентов входят следующие компоненты:

- реагент 1, L-аланин, 500 ммоль/л; трис-HCL, 100 ммоль/л; ЛДГ, 1300 ед/л; азид натрия в качестве протектора, 0,03 % – 1 флакон (40 мл), 1 флакон (80 мл) или 2 флакона (200 мл);
- реагент 2 α -кетоглутарат, 15 ммоль/л; NADH, 0,18 ммоль/л; азид натрия в качестве протектора, 0,03 % – 1 флакон (10 или 20 мл), 2 флакона (по 10 мл) или 1 флакон (100 мл).

Аналитические характеристики

Реакция линейна в течение 3 мин в диапазоне активности АЛТ от 10 до 190 ед/л. Отклонение от линейности не превышает 5%.

Чувствительность не более 7 ед/л.

Коэффициент вариации результатов определений – не более 5%.

Качество набора может оцениваться по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

Нормальные величины активности АЛТ в сыворотке или плазме крови у мужчин составляют от 10 до 40 ед/л, у женщин – от 10 до 31 ед/л.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон нормальных величин для обследуемого контингента.

Анализируемые образцы

Свежая негемолизированная сыворотка или плазма крови.

Активность АЛТ в сыворотке или плазме крови снижается после 3 дней хранения: при температуре +2-8 °C – на 10 %, при комнатной температуре (+18-25 °C) – на 17 %.

Меры предосторожности

Реагенты 1 и 2 содержат токсичный компонент – азид натрия в качестве протектора. Следует избегать попадания реагентов 1 и 2 на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место проточной водой. При попадании внутрь следует немедленно выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

При работе с сывороткой или плазмой крови человека следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять или передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Оборудование, материалы, реагенты:

- Спектрофотометр, длина волны 340 нм, термостатируемая кювета с длиной оптического пути 10 мм; полуавтоматический или автоматический биохимический анализатор;
- термостат, поддерживающий температуру $+37 \pm 1$ °C;
- секундомер;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 50, 500, и 1000 мкл;
- колба коническая вместимостью 100 мл;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- 0,9% раствор хлорида натрия (физиологический раствор).

Приготовление рабочего реагента

Перед проведением анализа смешать в колбе конической вместимостью 100 мл необходимое количество реагента 1 и реагента 2 в соотношении 4:1. Тщательно закрыть флаконы с реагентами 1 и 2 непосредственно после каждого использования.

Полученный рабочий реагент можно хранить при температуре $+2-8$ °C не более 48 ч или при комнатной температуре ($+18-25$ °C) не более 6 ч.

Проведение анализа

Перед началом работы кювету спектрофотометра и рабочий реагент нагреть до температуры +37 °С в течение 5 мин. При измерении оптической плотности постоянно поддерживать температуру +37 °С.

В кювету спектрофотометра внести 500 мкл рабочего реагента, добавить 50 мкл сыворотки или плазмы крови, перемешать, включить секундомер и точно через 1 мин измерить оптическую плотность пробы при длине волны 340 нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм против воздуха. Замер оптической плотности повторить три раза с интервалом в 1 мин (точно!).

Определить изменение оптической плотности пробы за 1 мин ($\Delta E/\text{мин}$) по формуле:

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

где: ΔE – изменение оптической плотности пробы, ед. опт. плотности;

t – интервал времени между определениями, мин.

Определить среднее арифметическое значение изменения оптической плотности опытной пробы за 1 мин по трем полученным измерениям.

Расчет активности АЛТ провести по формуле:

$$A = \Delta \bar{E} / \text{мин} \times 1746,$$

где: A - активность АЛТ, ед/л;

$\Delta \bar{E} / \text{мин}$ - среднее арифметическое значение изменений оптической плотности пробы за 1 минуту;

1746 - фактор пересчета (указывается в паспорте набора).

Примечание: 1 ед/л = 16,67 нмоль/(с л).

В том случае, когда величина $\Delta \bar{E} / \text{мин}$ превышает 0,11, образец сыворотки или плазмы крови следует развести физиологическим раствором в 10 раз, провести анализ и полученный результат умножить на 10.

Набор позволяет провести определение активности АЛТ в сыворотке или плазме крови также при температуре +25 °С или +30 °С. При этом ход проведения анализа остается таким

же, как это изложено выше; при измерении оптической плотности пробы необходимо постоянно поддерживать температуру проведения определения (+25 °С или +30 °С).

При необходимости выражения полученной активности АЛТ в ед/л для других температурных условий следует использовать температурные коэффициенты пересчета, приведенные в таблице.

Таблица

Температура инкубации	+25 °С	+30 °С	+37 °С
+25 °С	1,00	1,32	1,82
+30 °С	0,76	1,00	1,39
+37 °С	0,55	0,72	1,00

Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности. Допускается хранение наборов при температуре до +25 °С не более 30 сут.

Срок годности набора – 12 мес.

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов можно хранить при температуре +2-8 °С не более 90 дней при условии достаточной герметичности флаконов.

Рабочий реагент можно хранить при температуре +2-8 °С не более 48 ч или при комнатной температуре (+18-25 °С) не более 6 ч.

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

По вопросам, касающимся качества набора АЛТ-ОЛЬВЕКС, следует обращаться в ООО «Ольвекс Диагностикум» по адресу:

195197, г. Санкт-Петербург, пр. Обуховской обороны, 70.

Тел: (812) 567-84-46, (812) 567-83-02;

Факс: (812) 567-84-29

и в Институт стандартизации и контроля лекарственных средств ФГУ «НЦ ЭСМП» Росздравнадзора по адресу:

117246, г. Москва, Научный проезд, д. 14 А.

Тел: (095) 120-60-95, 120-60-96.

Директор производства
ООО «Ольвекс Диагностикум»



Ющин К.В.

«Согласовано»
Заведующая КДЛ ГУЗ СПб
поликлиники № 81



Козлова Н.Н.

Главный врач
ГУЗ СПб «Городская поликлиника № 81»



Арвентьев В.А.

Пронумеровано и прошнуровано
в количестве *6 (шесть)*
листов

Генеральный директор

Чавкин

