

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 2011 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Правительством Московской области



С. Г. Марданлы

2011 г.

**ИНСТРУКЦИЯ
ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
АКТИВНОСТИ АЛАНИНАМИНОТРАНСФЕРАЗЫ В СЫВОРОТКЕ И ПЛАЗМЕ
КРОВИ КИНЕТИЧЕСКИМ МЕТОДОМ**

(«АЛТ-ЖС»)

1. Назначение

Набор реагентов предназначен для количественного определения активности аланинаминотрансферазы в сыворотке и плазме крови в клинико-диагностических и биохимических лабораториях.

Набор рассчитан на проведение 100 или 300 определений при расходе 1,0 мл рабочего раствора реагентов на один анализ.

2. Характеристика набора

2.1. Принцип действия

Аланинаминотрансфераза катализирует в присутствии α – кетоглутарата переаминирование L – аланина с образованием пирувата. В присутствии лактатдегидрогеназы происходит окисление NADH. Скорость окисления NADH пропорциональна активности аланинаминотрансферазы и измеряется фотометрически при длине волны 340 нм.

2.2. Состав набора:

- Реагент 1 – буферно - ферментный раствор – 2 флакона (по 40 мл или 80 мл);
- Реагент 2 – раствор субстрата - 2 флакона (по 10 мл или 20 мл).

3. Аналитические и диагностические характеристики набора

Линейность определения - в диапазоне от 7,5 Е/л до 310 Е/л, отклонение – не более 5 %.

Чувствительность - не более 5 Е/л.

Коэффициент вариации результатов определения - не более 5 %.

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

Нормальные величины

в сыворотке и плазме крови от 5 до 40 Е/л.

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

4. Меры предосторожности при работе с набором

Потенциальный риск применения набора – класс 1.

Реагент 1 и 2 содержат азид натрия. При работе с ними следует соблюдать осторожность и не допускать попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

Меры предосторожности – соблюдение "Правил 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 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 гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5. Оборудование, материалы и реагенты

- фотометрическое оборудование, длина волны 340 нм; термостатируемая кювета с длиной оптического пути 1,0 см;
- термостат, поддерживающий температуру $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$
- пипетки, позволяющие отбирать объем жидкости 50 и 1000 мкл;
- 0,9 % раствор натрия хлористого (физиологический раствор);
- перчатки резиновые или пластиковые.

6. Анализируемые пробы

Негемолизированная сыворотка и гепаринизированная или ЭДТА плазма крови.

7. Проведение анализа

7.1. Приготовление рабочего раствора реагентов

Содержимое одного флакона с реагентом 2 количественно перенести во флакон с реагентом 1 или смешать реагент 1 с реагентом 2 в соотношении 4:1 в количестве, достаточном для проведения анализа проб. Рабочий раствор реагентов можно хранить при температуре $(2-8)^\circ\text{C}$ в темном месте в плотно закрытом флаконе не более 20 дней.

7.2. Проведение анализа

Перед проведением анализа рабочий раствор реагентов следует выдержать при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 5 мин.

Компоненты и анализируемые пробы отмерить в количествах, указанных в таблице.

Таблица	
Отмерить, мкл	Опытная проба
Рабочий раствор реагентов	1000
Сыворотка (плазма) крови	50

Примечание. При использовании кюветы меньшего объема расход реагентов может быть уменьшен при сохранении указанных выше соотношений.

Перемешать, инкубировать при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 1 мин. Измерить оптическую плотность пробы (E) против воздуха при длине волны 340 нм в кювете с длиной оптического пути 1,0 см. Измерение оптической плотности повторить с интервалом 1 мин в течение 3 мин.

8. Регистрация результатов

Длина волны: 340 нм;

Длина оптического пути: 1,0 см;

Температура анализа: $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$;

Измерение: относительно воздуха.

9. Учет результатов реакции

Рассчитать изменение оптической плотности в минуту (ΔE_i) для каждого определения по формуле (1):

$$\Delta E_1 = E_2 - E_1, \quad \Delta E_2 = E_3 - E_2, \quad \Delta E_3 = E_4 - E_3 \quad (1),$$

где E_1 - значение оптической плотности пробы после инкубации (задержка);

$E_{2,3,4}$ - значение оптической плотности пробы после 1, 2, 3 минуты реакции, соответственно.

Рассчитать среднее арифметическое значение изменения оптической плотности в минуту ($\Delta \bar{E}_{np} / \text{мин}$) для анализируемой пробы по формуле (2):

$$\Delta \bar{E}_{np} / \text{мин} = \frac{\Delta E_1 + \Delta E_2 + \Delta E_3}{3} \quad (2),$$

где $\Delta E_1, \Delta E_2, \Delta E_3$ - изменения оптической плотности проб в первую, вторую и третью минуты реакции;

3 - количество минут, в течение которых проводилось измерение.

Рассчитать активность аланинаминотрансферазы в сыворотке (плазме) крови (А, Е/л) по формуле (3):

$$A = \Delta \bar{E}_{np} / \text{мин} \times 3333 \quad (3),$$

3333 - фактор расчета активности аланинаминотрансферазы.

Е/л.

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

10. Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре $(2-8) ^\circ\text{C}$ в течение всего срока годности. Допускается хранение при температуре до $+25 ^\circ\text{C}$ не более 5 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

Срок годности набора – 1 год.

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов можно хранить при температуре $(2-8) ^\circ\text{C}$ в темном месте в плотно закрытых флаконах в течение всего срока годности.

Рабочий раствор реагентов можно хранить при температуре $(2-8) ^\circ\text{C}$ в темном месте в плотно закрытых флаконах не более 20 дней.

При активности аланинаминотрансферазы выше 310 Е/л пробу следует развести физиологическим раствором в 5 раз и полученный результат умножить на 5.

Начальник лаборатории
биохимии ЗАО «ЭКОлаб»

100

СОГЛАСОВАНО:

Зав. кафедрой клинической лабораторной
диагностики ГОУ ДНО «РМАПО Росздрава»
д.м.н., профессор

лабораторной
 ПО Раздаточной

1573 Pen-rite

В. В. Долгов



Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

4 лист
Начальник отдела истории биохимии
ЗАО «Бласт»
Ф. М. Сиренко
« 6 » 2011 г.

