

УТВЕРЖДЕНА

«УТВЕРЖДАЮ»

Приказом Росздравнадзора

от _____ 200__ г. № _____



А.П.Стрелков

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения активности
аланинаминотрансферазы
в сыворотке и плазме крови КлиниТест-АЛТ

1. Назначение.

Набор предназначен для количественного определения активности АЛТ в сыворотке и плазме крови человека в клинично-диагностических и биохимических лабораториях и в научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 100 или 500 определений при суммарном расходе 1,0 мл реагентов на один анализ.

2. Характеристика набора.

2.1. Принцип действия.

АЛТ катализирует реакцию переаминирования между L-аланином и 2-оксоглутаратом с образованием L-глутамата и пирувата. В ходе последующей окислительно - восстановительной реакции между пируватом и НАДН, катализируемой лактатдегидрогеназой, в эквимольных количествах получают лактат и NAD^+ . Концентрация NAD^+ измеряется фотометрически при длине волны 340 нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм. Скорость уменьшения концентрации НАДН прямо пропорциональна активности АЛТ.

2.2. Состав набора:

- Реагент 1 – трис-(оксиметил)аминометан, 0,1 моль/л, соляная кислота, 0,1 моль/л, лактатдегидрогеназа, 1200 Е/л, L-аланин, 0,5 моль/л, натрия азид, 1 г/л - 1 флакон (80 мл) или 4 флакона (100 мл); 1 флакон (80 мл) или 4 флакона (100 мл);

- Реагент 2 – НАДН, 0,18 ммоль/л, трис-(оксиметил)аминометан, 0,1 моль/л, соляная кислота, 0,1 моль/л, альфа-кетоглутаровая кислота, 15 ммоль/л, натрия азид, 1 г/л - 1 флакон (20 мл) или 1 флакон (100 мл).

Инструкция составлена старшим научным сотрудником РОО СПбОЕ С.А. Коньковым и зав. отд. лабораторной диагностики «ФГУ НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова Росмедтехнологий», д.м.н., В.К. Гуркало

3. Аналитические и диагностические характеристики набора.

Чувствительность - не более 15 Е/л.

Линейность. Набор обеспечивает линейность при определении активности АЛТ в диапазоне от 20 до 240 Е/л с отклонением от линейности не более 5%.

Коэффициент вариации - не более 5%.

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

Активность АЛТ в норме составляет: в сыворотке и плазме крови – 6-40 Е/л.

4. Меры предосторожности при работе с набором.

Меры предосторожности при работе с набором – 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:

- биохимический анализатор, длина волны 340 нм (490-515 нм), кювета с длиной оптического пути 10 мм;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкостей 0,1 и 1,0 мл;
- пробирки вместимостью 5 – 10 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

6. Анализируемые пробы.

Негемолизированная сыворотка или плазма крови.

7. Проведение анализа

7.1. Приготовление рабочего реагента.

Смешать необходимые количества реагентов 1 и 2 в соотношении 4:1. Рабочий реагент стабилен при температуре 2-8° С не более 14 суток.

7.2. Проведение анализа.

Компоненты реакционной смеси отбирать в количествах, указанных в таблице 1.

Непосредственно перед измерением нагреть рабочий реагент до 37° С.

Внести	Опытная проба
Сыворотка, плазма крови	100 мкл
Рабочий реагент	1000 мкл

8. Регистрация результатов.

Перемешать и измерить оптическую плотность через 60 секунд (E_1) при длине волны 340 нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм и затем еще ровно через 60 секунд (E_2).

9. Учет результатов реакции.

Рассчитать разницу $\Delta E = E_2 - E_1$.

Активность АЛТ в анализируемом образце рассчитать по формуле:

$$A = \Delta E \times 1746$$

где: ΔE – изменение оптической плотности за одну минуту, ед. опт. плотн.;

1746 – фактор пересчета для выражения активности АЛТ в Е/л.

Условия хранения и эксплуатации набора.

Хранение набора можно производить при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (12 месяцев).

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов могут храниться при температуре $2-8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности наборов при условии достаточной герметичности флаконов.

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

По вопросам, касающимся качества набора КлиниТест-АЛТ, следует обращаться в:

- РОО «Сант-Петербургское общество естествоиспытателей» по адресу: 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская набережная, 7/9, тел.: (812) 3289663, 4506779;

Старший научный сотрудник
РОО СПбОЕ

С.А.Коньков

Заведующий отделением
лабораторной диагностики «ФГУ НИИ онкологии
им. Н.Н. Петрова Росмедтехнологий»,
доктор медицинских наук,

В.К. Гуркало

