

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ АЛАНИНАМИНОТРАНСФЕРАЗЫ В СЫВОРОТКЕ И ПЛАЗМЕ КРОВИ (КАТ.№№ В-10371, В-10372, В-10373, В-10374)

Утверждена приказом Росздравнадзора от 19.01.2009 г. № 226-Пр/09
РУ № ФСР 2009/04022 от 19.01.2009 г.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для фотометрического определения активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) в сыворотке и плазме крови ферментативным кинетическим IFCC-методом без пиридоксаль-5-фосфата в клинико-диагностических лабораториях и в научно-исследовательской практике. Набор рассчитан на 50, 100, 125 и 500 определений при конечном объеме реакционной смеси 1 мл.

ПРИНЦИП МЕТОДА

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 лактат-дегидрогеназой, в эквимольных количествах получаются лактат и НАД⁺. Скорость уменьшения концентрации НАДН прямо пропорциональна активности АЛТ.

СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1 (Р1). ТРИС-буфер, ЛДГ – 1200 Е/л, L-аланин – 500 ммоль/л, азид натрия

Реагент 2 (Р2). ТРИС-буфер, 2-оксоглутарат – 15 ммоль/л, НАДН – 0,18 ммоль/л, азид натрия

Кат.№ Фасовка

В-10371 Р1 1x80 мл + Р2 1x20 мл

В-10372 Р1 5x80 мл + Р2 1x100 мл

В-10373 Р1 1x40 мл + Р2 1x10 мл

В-10374 Р1 5x20 мл + Р2 1x25 мл

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность – не более 15 Е/л

Линейность – от 20 до 240 Е/л с отклонением не более 5%.

Коэффициент вариации – не более 5%.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Во избежание возможного инфицирования при работе с образцами крови необходимо надевать одноразовые резиновые перчатки.

При использовании набора следует соблюдать правила техники безопасности при работе с химическими веществами.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Анализаторы открытого типа различных изготовителей, набор дозаторов, позволяющих отбирать объемы 0,1-1,0 мл, терморстат, секундомер.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Свежая негемолизированная сыворотка или гепаринизированная плазма.

Определение активности АЛТ должно быть проведено в день взятия образца, поскольку фермент теряет активность как при комнатной температуре (18-25°C), так и при замораживании [1, 2].

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

Приготовление монореагента для схемы 1

Смешать необходимые количества реагентов 1 и 2 в соотношении 4:1. Полученный монореагент стабилен в течение 14 суток при температуре 2-8°C.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны 340 нм.

Кювета с длиной оптического пути 10 мм.

Температура проведения реакции 37°C.

Приготовить пробы в соответствии со схемой определения (объемы компонентов могут быть пропорционально изменены).

Схема 1. Запуск реакции образцом

Раствор	Опытная проба
Монореагент, мл	1,0

Инкубировать 5 мин. при температуре 37°C.

Образец, мл	0,1
-------------	-----

Пробы тщательно перемешать. Через 60 с измерить оптическую плотность опытной пробы (E₁). Через 60 с повторить измерение (E₂).

Рассчитать изменение оптической плотности за минуту (E₁ - E₂).

Схема 2. Запуск реакции реагентом 2

Раствор	Опытная проба
Реагент 1, мл	0,8
Образец, мл	0,1

Перемешать, инкубировать 5 мин. при температуре 37°C.

Реагент 2, мл	0,2
---------------	-----

Пробы тщательно перемешать. Через 60 с измерить оптическую плотность опытной пробы (E₁). Через 60 с повторить измерение (E₂).

Рассчитать изменение оптической плотности за минуту (E₁ - E₂).

Примечание. Если вносится 1 мл реагента 1, то объем образца следует увеличить до 0,125 мл, а объем реагента 2 до 0,25 мл.

РАСЧЁТ

Активность **A** аланинаминотрансферазы в единицах Е/л рассчитать по формуле:

$$A = 1746 \cdot (E_1 - E_2)$$

ПАРАМЕТРЫ ДЛЯ БИОХИМИЧЕСКИХ АНАЛИЗАТОРОВ

Тип анализатора	Любой
Метод измерения	Кинетика
Длина волны, нм	340
Измерение против	Воздуха или дистилл. воды
Температура реакции	37°C
Единица измерения	Е/л
Число знаков после запятой	0
Изменение оптической плотности	Уменьшается
Фактор	1746
Соотношение реагент/проба	10:1
Количество измерений, не менее	3
Время преинкубации, сек.	60
Время реакции, сек.	60
Верхний предел абсорбции реагента против воды, Е	2,0
Нижний предел абсорбции реагента против воды, Е	0,8
Предел максимальной абсорбции ΔЕ/мин.	0,14
Границы линейности, Е/л	20-240
Максимум нормы, Е/л	40*
Минимум нормы, Е/л	6*

*Приведены нормальные величины для мужчин.

В случае возникновения каких-либо трудностей можно запросить адаптированную инструкцию по работе с набором «КлиниТест-АЛТ» на вашем анализаторе.

ПРИМЕЧАНИЯ

1. Для каждого анализатора следует уточнять фактор пересчёта по контрольным сывороточным калибраторам, аттестованным данным методом.
2. Если активность АЛТ выше 240 Е/л образец развести физраствором в 10 раз, анализ повторить, величину рассчитанной активности умножить на 10.

НОРМАЛЬНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Мужчины от 6 до 40 Е/л
Женщины от 6 до 32 Е/л

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнять диапазон нормальных величин.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре 2-8°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°C и при условии достаточной герметичности флаконов в течение всего срока годности набора.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества может быть проведён по контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Обеспечение качества лабораторных исследований. Преаналитический этап. Под ред. В.В. Меньшикова, М., 1999, «Лабинформ».
2. Энциклопедия клинических лабораторных тестов. Под ред. проф. Н.У. Тица, М., 1997, «Лабинформ».