Версия 1-2021

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

_____А.Г. Плехов

«___» _____2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ

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

«АЛТ-ВИТАЛ»,
ТУ 21.20.23-109-94568735-2021

1. НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1.1. Набор реагентов для определения активности аланинаминотрансферазы в сыворотке (плазме) крови оптимизированным кинетическим энзиматическим методом «АЛТ-ВИТАЛ» (далее по тексту - набор) предназначен для количественного определения активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) в сыворотке (плазме) крови человека в клинической лабораторной диагностике, клинической медицине, медицинской биохимии и научно-исследовательской практике. Набор предназначен для лабораторной in vitro диагностики и должен применяться специалистами, имеющими необходимую квалификацию в данной области в соответствии с требованиями документов, регламентирующих деятельность лаборатории.

1.2. Показания к использованию набора – определение активности АЛТ в сыворотке (плазме) крови с целью выявления и оценки выраженности цитолитического синдрома при диагностике и дифференциальной диагностике, мониторинге и контроле терапии заболеваний печени, обследовании доноров.

1.3. Набор может быть использован для исследования всех групп населения без градации по демографическому или популяционному признаку. Противопоказаний не имеет.

1.4. Целевой аналит. Аланинаминотрансфераза (АЛТ) – широко распространённый внутриклеточный фермент класса трансаминаз, катализирует реакцию трансаминирования, участвует в катаболизме аминокислот, энергетическом метаболизме клеток, содержится преимущественно в клетках печени, в меньшей степени скелетных мышц, миокарда, поджелудочной железы.

Повышение активности АЛТ в крови наблюдается при заболеваниях печени (острый и хронический вирусный гепатит, алкогольный гепатит, рак печени, метастазы в печень, цирроз, острая алкогольная интоксикация, механическая желтуха, токсическое поражение, холангит), повреждениях скелетной мускулатуры (травмы, миопатия, мышечная дистрофия, дерматомиозит), при сердечно-сосудистых заболеваниях (острый инфаркт миокарда), некоторых инфекционных заболеваниях (инфекционный мононуклеоз, герпес, полиомиелит), приеме лекарственных препаратов (антибиотики, пероральные контрацептивы).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Снижение активности АЛТ в сыворотке (плазме) крови наблюдается редко (при дефиците витамина B_6, при беременности, гемодиализе).

1.5. Набор выпускается в двух формах – жидкой (комплекты 1-15) и лиофилизированной (комплекты 16, 17).

Варианты исполнения:

Комплект 1:
- реагент 1 – 1 флакон (40 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (10 мл).

Комплект 2:
- реагент 1 – 1 флакон (80 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (20 мл).

Комплект 3:
- реагент 1 – 2 флакона (по 80 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 20 мл).

Комплект 4:
- реагент 1 – 2 флакона (по 200 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (100 мл).

Комплект 5:
- реагент 1 – 2 флакона (по 40 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 11 мл).

Комплект 6:
- реагент 1 – 6 флаконов (по 40 мл),
- реагент 2 – 6 флаконов (по 11 мл).

Комплект 7:
- реагент 1 – 4 флакона (по 20 мл),
- реагент 2 – 4 флакона (по 5,5 мл).

Комплект 8:
- реагент 1 – 10 флаконов (по 20 мл),
- реагент 2 – 10 флаконов (по 5,5 мл).

Комплект 9:
- реагент 1 – 2 флакона (по 50 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 15 мл).

Комплект 10:
- реагент 1 – 6 флаконов (по 50 мл),
- реагент 2 – 6 флаконов (по 15 мл).

Комплект 11:
- реагент 1 – 2 флакона (по 70 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 20 мл).

Комплект 12:
- реагент 1 – 4 флакона (по 70 мл),
- реагент 2 – 4 флакона (по 20 мл).

Комплект 13:
- реагент 1 – 6 флаконов (по 70 мл),
- реагент 2 – 6 флаконов (по 20 мл).

Комплект 14:
- реагент 1 – 4 флакона (по 35 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 18 мл).

Комплект 15:
- реагент 1 – 6 флаконов (по 40 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 32 мл).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Комплект 16:
- реагент 1 – 1 флакон (50 мл),
- реагент 2 – 1 флакон.
Комплект 17:
- реагент 1 – 2 флакона (по 50 мл),
- реагент 2 – 2 флакона.
Варианты исполнения рассчитаны* на:
Комплект 1 – 100 определений,
Комплект 2 – 200 определений,
Комплект 3 – 400 определений,
Комплект 4 – 1000 определений,
Комплект 5 – 360 определений,
Комплект 6 – 1080 определений,
Комплект 7 – 480 определений,
Комплект 8 – 1200 определений,
Комплект 9 – 560 определений,
Комплект 10 – 1680 определений,
Комплект 11 – 830 определений,
Комплект 12 – 1660 определений,
Комплект 13 – 2490 определений,
Комплект 14 – 620 определений,
Комплект 15 – 1040 определений,
Комплект 16 – 100 определений,
Комплект 17 – 200 определений.
*В зависимости от параметров для ввода, указанных в руководстве пользователя для анализатора.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ

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

$$\text{L-аланин} + \alpha\text{-кетоглутарат} \xrightarrow{\text{АЛТ}} \text{пируват} + \text{L-глутамат}$$

$$\text{Пируват} + \text{NADH} + H^+ \xrightarrow{\text{ЛДГ}} \text{D-лактат} + NAD^+$$

Скорость окисления NADH в NAD^+ пропорциональна активности АЛТ в пробе.

3. СОСТАВ

Состав набора в жидкой форме (комплекты 1-15).

- реагент 1 – трис(гидроксиметил)аминометан, 100 ммоль/л; L-аланин, 500 ммоль/л; лактатдегидрогеназа, 1300 Е/л; натрия азид, 0,095%, готов к использованию:
- комплект 1 - 1 флакон (40 мл),
- комплект 2 - 1 флакон (80 мл),
- комплект 3 - 2 флакона (по 80 мл),
- комплект 4 - 2 флакона (по 200 мл),
- комплект 5 - 2 флакона (по 40 мл),
- комплект 6 - 6 флаконов (по 40 мл),
- комплект 7 - 4 флакона (по 20 мл),
- комплект 8 - 10 флаконов (по 20 мл),
- комплект 9 - 2 флакона (по 50 мл),

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- комплект 10 - 6 флаконов (по 50 мл),
- комплект 11 - 2 флакона (по 70 мл),
- комплект 12 - 4 флакона (по 70 мл),
- комплект 13 - 6 флаконов (по 70 мл),
- комплект 14 - 4 флакона (по 35 мл),
- комплект 15 - 6 флаконов (по 40 мл).

- реагент 2 – α-кетоглутарат натрия, 15 ммоль/л; β-никотинамидадениндинуклеотид восстановленный (β-НАДН), 0,18 ммоль/л; натрия азид, 0,095%, готов к использованию:

- комплект 1 - 1 флакон (10 мл),
- комплект 2 - 1 флакон (20 мл),
- комплект 3 - 2 флакона (по 20 мл),
- комплект 4 - 1 флакон (100 мл),
- комплект 5 - 2 флакона (по 11 мл),
- комплект 6 - 6 флаконов (по 11 мл),
- комплект 7 - 4 флакона (по 5,5 мл),
- комплект 8 - 10 флаконов (по 5,5 мл),
- комплект 9 - 2 флакона (по 15 мл),
- комплект 10 - 6 флаконов (по 15 мл),
- комплект 11 - 2 флакона (по 20 мл),
- комплект 12 - 4 флакона (по 20 мл),
- комплект 13 - 6 флаконов (по 20 мл),
- комплект 14 - 2 флакона (по 18 мл),
- комплект 15 - 2 флакона (по 32 мл).

Состав набора в лиофилизированной форме (комплекты 16, 17).

- реагент 1 – буфер: трис(гидроксиметил)аминометан, 100 ммоль/л; L-аланин, 500 ммоль/л; α-кетоглутарат натрия, 15 ммоль/л; натрия азид, 0,095%; готов к использованию:

- комплект 16 - 1 флакон (50 мл),
- комплект 17 - 2 флакона (по 50 мл).

- реагент 2 – лиофилизированная смесь, конечная концентрация компонентов после растворения: лактатдегидрогеназа, 1300 Е/л; β-никотинамидадениндинуклеотид восстановленный (β-НАДН), 0,18 ммоль/л; бычий сывороточный альбумин, 1 г/л; натрия азид, 0,095%:

- комплект 16 - 1 флакон,
- комплект 17 - 2 флакона.

Примечание:

1. Материалы животного происхождения, входящие в состав реагентов, не представляют опасности для человека.

2. При постановке анализа могут быть использованы многокомпонентные калибраторы, аттестованные данным методом и зарегистрированные в установленном порядке.

4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Линейная область определения – в диапазоне 7-700 Е/л.

Чувствительность – 7 Е/л.

Коэффициент вариации – не более 5 %.

Аналитическая специфичность набора: такие потенциально интерферирующие вещества, как гемоглобин до концентрации 1 г/л, билирубин до концентрации 377 мкмоль/л, триглицериды до концентрации 5,39 ммоль/л, аскорбиновая кислота до концентрации 115 мг/дл и общий белок до концентрации 100 г/л не влияют на правильность определения активности АЛТ.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Качество набора может проверяться по контрольным материалам, аттестованным данным методом и зарегистрированным в установленном порядке.

Нормальные величины активности АЛТ в сыворотке (плазме) крови при температуре измерения +37°С составляют у мужчин 10-40 Е/л, у женщин – 10-31 Е/л.

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

Аналитические характеристики набора установлены в соответствии с ГОСТ Р 53022.2-2008.

5. ОБРАЗЦЫ

Свежая негемолизированная сыворотка крови или плазма крови (ЭДТА, гепарин).

Взятие крови для анализа следует проводить с использованием стандартных процедур для венозной крови.

Образцы можно хранить не более 2 суток при температуре +2-8°С или не более 1 месяца при температуре -18°С. Повторное замораживание образцов не допускается. Пробирки с образцами следует плотно закрывать. Не следует использовать липемичные образцы.

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Реагенты 1 и 2 содержат токсичное вещество – натрия азид. При работе с набором следует соблюдать осторожность и не допускать попадания реагентов в глаза, на кожу и слизистые. При попадании в глаза, на кожу и слизистые следует немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании следует выпить 0,5 л воды, вызвать рвоту, обратиться к врачу.

При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 и СП 1.3.2322-08.

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

Физические риски (возможность самопроизвольного взрыва или возгорания) отсутствуют.

7. ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- спектрофотометр с термостатируемой кюветой с длиной оптического пути 10 мм, полуавтоматический или автоматический биохимический анализатор с возможностью выполнения кинетического измерения при длине волны 340 (334, 365) нм при температуре инкубации +37°С;
- термостат, обеспечивающий температуру +37±1°С;
- секундомер;
- дозаторы полуавтоматические одноканальные с одноразовыми наконечниками;
- пробирки вместимостью 1-2 мл;
- колба вместимостью 50 мл;
- дистиллированная вода;
- физиологический раствор (0,9 % раствор NaCl);
- перчатки резиновые или пластиковые.

Примечание. Использование набора на каждом анализаторе осуществляется в соответствии с руководством пользователя для анализатора. Параметры для ввода в программу анализаторов предоставляются по запросу.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

8. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Подготовка к анализу реагентов 1 и 2 набора в жидкой форме (комплекты 1-15)

- монореагентный метод:

Приготовление рабочего реагента: внести в колбу вместимостью 50 мл необходимое количество реагента 1 и реагента 2 в соотношении 4:1 и перемешать.

- биреагентный метод:

Реагенты 1, 2 готовы к использованию.

Подготовка к анализу реагентов 1 и 2 набора в лиофилизированной форме (комплекты 16, 17)

Приготовление рабочего реагента: содержимое одного флакона с реагентом 2 растворить в одном флаконе реагента 1, выдержать в течение 5-10 минут при температуре +18-25°С, аккуратно перемешать.

Непосредственно перед использованием реагенты нагреть до температуры +37°С.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны: 340 (334, 365) нм;

Длина оптического пути: 10 мм;

Температура инкубации: +37°С;

Фотометрирование: против воды или рабочего реагента.

Проведение анализа монореагентным методом:

В термостатируемую (+37°С) кювету спектрофотометра внести 0,5 мл рабочего реагента, добавить 0,05 мл анализируемой сыворотки (плазмы) крови, пробу тщательно перемешать и одновременно включить секундомер, инкубировать 1 минуту (точно!), измерить оптическую плотность (Е). Замер оптической плотности повторить 3 раза с интервалом 1 минуту (точно!).

Проведение анализа биреагентным методом:

В термостатируемую (+37°С) кювету спектрофотометра внести 0,4 мл реагента 1, добавить 0,05 мл анализируемой сыворотки (плазмы) крови, пробу тщательно перемешать и одновременно включить секундомер, инкубировать 1 минуту, добавить 0,1 мл реагента 2, пробу тщательно перемешать, инкубировать 1 минуту (точно!), измерить оптическую плотность (Е). Замер оптической плотности повторить 3 раза с интервалом 1 минуту (точно!).

Примечание.

Расход реагентов и анализируемых образцов зависит от типа используемого прибора и объема кюветы.

10. РАСЧЕТЫ

Изменение оптической плотности за 1 минуту ($\Delta E / мин$) определить по формуле:

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

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

t – интервал времени между определениями, мин.

Активность АЛТ (A) в анализируемом образце сыворотки (плазмы) крови определить по формуле:

$$A = \Delta E / мин \times F,$$

где: $\Delta E / мин$ - изменение оптической плотности пробы за 1 минуту, ед. опт. плотн.;

F – фактор пересчета для выражения активности АЛТ в Е/л (указывается в паспорте на набор).

Примечание. Коэффициент пересчета единиц измерения 1 Е/л = 16,67 нмоль/(с×л).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Если значение активности АЛТ в анализируемой пробе превышает 700 Е/л, анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором, повторить определение и полученный результат умножить на фактор разведения.

11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя и его транспортирование всеми видами крытого транспорта допускается при температуре +2-8°С в течение всего срока годности, при температуре до +25°С – не более 5 суток, замораживание компонентов набора не допускается.

Использование набора, транспортировавшегося или хранившегося с нарушением регламентированного температурного режима, не допускается.

12. УСЛОВИЯ ЭКСПЛУАТАЦИИ

Срок годности набора – 24 месяца.

Реагенты 1 и 2 набора в жидкой форме (комплекты 1-15) после вскрытия флаконов можно хранить при температуре +2-8°С не более 1 месяца.

Реагенты 1 и 2 набора в лиофилизированной форме (комплекты 16, 17) необходимо использовать для приготовления рабочего реагента в течение 15 минут после вскрытия флаконов. Время полного растворения реагента 2 – не более 10 минут.

Рабочий реагент набора в жидкой и лиофилизированной форме можно хранить при температуре +2-8°С не более 1 месяца.

Оптическая плотность рабочего реагента, измеренная при длине волны 340 нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм, должна находиться в пределах 0,6-2,2 ед. опт. плотн.

Реагенты 1, 2 и рабочий реагент набора в жидкой форме (комплекты 1-15), а также рабочий реагент набора в лиофилизированной форме (комплекты 16, 17) можно хранить на борту анализатора не более 1 месяца при условии круглосуточного охлаждения.

Необходимо обеспечивать достаточную герметичность флаконов!

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа могут привести к получению неверных результатов исследования.

До окончания срока годности набора, при условии соблюдения температурного режима хранения, транспортирования и эксплуатации, производитель гарантирует работоспособность набора и соответствие всех аналитических и диагностических характеристик набора заявленным. Не допускается использование серии набора по истечении срока ее годности. Техническое обслуживание и ремонт медицинского изделия для диагностики in vitro не применяются.

Производитель произвел верификацию, валидацию и оценку стабильности набора в соответствии с ГОСТ Р ИСО 23640-2015. Результаты исследований, отраженные в соответствующих протоколах, признаны удовлетворяющими параметрам, заявленным в настоящей технической документации.

Оценка рисков, связанных с возможным изменением параметров проведения анализа (изменение температуры и времени инкубации), проводилась в соответствии с ГОСТ ISO 14971-2011. По результатам анализа риски минимизированы до уровня «приемлемый».

13. СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

Утилизацию использованных реагентов и реагентов с истекшим сроком годности производить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 в отношении отходов класса «Б».

Дезинфекцию следует проводить в соответствии с МУ 287-113.

14. ЗАЩИТА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Производитель гарантирует, что набор разработан и произведен с целью предотвращения

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

любых рисков для окружающей среды. Набор в процессе использования не оказывает воздействия на окружающую среду и не приводит к ущербу для нее при соблюдении всех мер безопасности и утилизации набора, рекомендованных производителем.

15. ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться к производителю - в Акционерное Общество “Витал Девелопмент Корпорэйшн” (АО “Витал Девелопмент Корпорэйшн”) по адресу:

194356, Санкт-Петербург, Дорога в Каменку, д. 56, лит. А.

Тел/факс: (812) 702-10-86, 8(800) 200-23-24

Генеральный директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» А.Г. Плехов

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» П.К. Варнавичус



11.06.21г

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Прошито, пронумеровано,
и скреплено печатью

Всего 8 листа(ов)

Ген. директор Плехов А.Г.

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 8 ЛИСТОВ

«11» 06 2021 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru