

Код 11832 1x50 мл	Код 11533 1 x 200 мл	Код 11568 1 x 500 мл	Код 11562 1 x 1 л
Хранить при 2-8°C			
Реагенты для измерения концентрации АЛТ Использовать только для работы «in vitro» в клинической лаборатории			

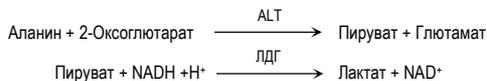
ALANINE AMINOTRANSFERASE (ALT/GPT)



АЛАНИНАМИНОТРАНСФЕРАЗА (ALT/GPT) IFCC

ПРИНЦИП МЕТОДА

Аланинаминотрансфераза (ALT/GPT) катализирует перенос аминогруппы от аланина к 2-оксоглутарату, образуя пируват и глутамат. Активность ALT определяется по скорости уменьшения NADH, оптическая плотность которого измеряется при 340 нм (в реакции с участием лактатдегидрогеназы – ЛДГ)



НАБОРЫ

	Код 11832	Код 11533	Код 11568	Код 11562
А. Реагент	1 x 40 мл	1 x 160 мл	1 x 400 мл	1 x 800 мл
В. Реагент	1 x 10 мл	1 x 40 мл	1 x 100 мл	1 x 200 мл

СОСТАВ

А. Реагент: Трис 150 ммоль/л, L-аланин 750 ммоль/л, лактатдегидрогеназа >1350 Ед/л, рН 7,3.

В. Реагент: NADH 1,3 ммоль/л, 2-оксоглутарат 75 ммоль/л, гидроксид натрия 148 ммоль/л, азид натрия 9,5 г/л.

Вредный (Xn): R22. Не глотать. R31: при контакте с кислотами высвобождает токсичный газ. S28.1: После контакта с кожей немедленно промыть водой. S45: при несчастном случае и плохом самочувствии, немедленно обратитесь за медицинской помощью.

ХРАНИЕНИЕ

Хранить при 2-8°C.

Реагенты и стандарт стабильны до окончания срока годности, указанного на этикетке, при хранении в плотно закрытом сосуде и предотвращении загрязнения во время использования.

Признаки загрязнения:

- Реагенты: присутствие взвешенных частиц, мутность, абсорбция бланка ниже 1,200 при 340 нм (1 см кювета).

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЙ РЕАГЕНТ

С. Реагент (код 11666): Пиридоксальфосфат 10 ммоль/л, 5 мл.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАКТИВОВ

Рабочий реагент:

Налить содержимое флакона с реагентом В во флакон с реагентом А. Осторожно перемешать. Другие объемы рабочего реактива могут быть приготовлены следующим образом: 4 мл реагента А+1 мл реагента В. Раствор стабилен в течение 2 месяцев при 2-8°C.

Рабочий реагент с пиридоксальфосфатом (примечание 1):

Перемешать: 10 мл Рабочего реагента + 0,1 мл Реагента С (код 11666). Стабильность составляет 6 дней при 2-8°C.

НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

- Анализатор, спектрофотометр или фотометр с термостатируемой измерительной ячейкой на 30 или 37°C с фильтром 340 нм
- Кюветы с длиной оптического пути 1 см

ОБРАЗЦЫ

Сыворотка, полученная с помощью стандартных процедур.

Аланинаминотрансфераза стабильна в сыворотке в течение 7 дней при 2-8°C

ПРОЦЕДУРА

1. Нагреть Рабочий Реагент и измерительную ячейку фотометра до температуры реакции.
2. Внести в кювету (примечание 2)

Температура реакции	37°C	30°C
Рабочий Реагент	1.0 мл	1.0 мл
Образец	50 мкл	100 мкл

3. Перемешать и поместить кювету в фотометр. Начать отсчет времени.
4. Через 1 минуту (примечание 1), измерить начальную абсорбцию и повторить измерение с интервалом в 1 минуту в течение 3 минут
5. Вычислить среднее изменение абсорбции за минуту (ΔA /мин.)

РАСЧЕТ

Концентрация АЛТ/GPT в образце вычисляется по следующей формуле:

$$\Delta A / \text{мин} \times \frac{Vt \times 10^6}{\epsilon \times l \times V_s} = \text{Ед/л}$$

Коэффициент молярной абсорбции (ϵ) NADH при 340 нм составляет 6300, оптический путь (l) составляет 1 см, общий реакционный объем (Vt) равен 1.05 при 37°C и 1.1 при 30°C, объем образца (Vs) равен 0.05 при 37°C и 0.1 при 30°C, и 1Ед/л равен 0.0166 мккат/л. Для расчета активности фермента используйте следующие факторы:

	37°C	30°C
$\Delta A/\text{мин}$	x 3333 = Ед/л x 55.55 = мккат/л	x 1746 = Ед/л x 29.1 = мккат/л

НОРМАЛЬНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Температура реакции	37°C	30°C
Без пиридоксаль фосфата, до ^{1,3}	41 Ед/л = 0.68 мкКат/л	29 Ед/л = 0.48 мкКат/л
С пиридоксаль фосфатом, до ^{1,2}	65 Ед/л = 1.08 мкКат/л	35 Ед/л = 0.77 мкКат/л

Концентрации у новорожденных и младенцев выше, чем у взрослых. Величины АСТ у мужчин слегка выше, чем у женщин.

Данные величины ориентировочны, каждая лаборатория должна устанавливать свои диапазоны нормальных значений.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для проведения контроля качества теста и процедуры исследования рекомендуется использовать Контрольную сыворотку Уровень I (код 18005, 18009 и 18042) и уровень II (код 18007, 18010 и 18043). Каждая лаборатория должна выработать собственную схему внутреннего контроля качества и процедуры для коррекции действий в случае, если контроль качества не укладывается в приемлемые диапазоны.

МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- Предел обнаружения: 1.6 Ед/л=0.027 мккат/л.
- Предел линейности: 500 Ед/л = 8.33 мккат/л. Для более высоких значений следует развести образец дистиллированной водой 1/10 и повторить измерение.
- Сходимость (внутри серии):

Средняя концентрация	CV	n
43 Ед/л = 0.72 мккат/л	1.8%	20
192 Ед/л = 3.20 мккат/л	2.8%	20

- Воспроизводимость (между сериями):

Средняя концентрация	CV	n
43 Ед/л = 0.72 мккат/л	5.3%	25
192 Ед/л = 3.20 мккат/л	2.7%	25

- отличий при сравнении с результатами, полученными с другими реагентами. Детали сравнительных экспериментов доступны по требованию.

- Интерференция: Гемолиз (гемоглобин 10 г/л) и билирубин (20 мг/дл) не влияют на результаты. Липемия (триглицериды 2 г/л) может влиять на результаты. Некоторые вещества и лекарства могут искажать результат⁵.

Данные метрологические характеристики были получены при использовании анализатора, при использовании другого оборудования или ручных методов результаты могут варьировать.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аланинаминотрансфераза катализирует образование глютаминовой кислоты из 2-оксоглутарата посредством переноса аминогруппы. АЛТ обычно присутствует в различных тканях, но в наивысшей концентрации найдена в печени и почках.

Сывороточные концентрации АЛТ повышены при гепатите и других заболеваниях печени, связанных с некрозом: инфекционном мононуклеозе, холестазе, циррозе, метастатической карциноме печени, алкогольном делирии и после приема различных лекарств, таких как опиаты, салицилаты или ампицилин^{5,6}.

Сывороточные концентрации АЛТ также повышены при заболеваниях скелетной или сердечной мускулатуры^{5,6}.

Клинический диагноз не должен основываться на результатах отдельного теста, он должен согласовываться с результатами клинических и лабораторных данных.

ПРИМЕЧАНИЯ

1. IFCC рекомендует методы с добавлением пиридоксальфосфата. Тогда время инкубации перед измерением следует увеличить до 2 минут.
2. Данные реагенты могут использоваться в различных автоматических анализаторах. Инструкции доступны по требованию.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Sociedad Española de Química Clínica, Comité Científico, Comisión de Enzimas. Método recomendado para la determinación en rutina de la concentración catalítica de la alanina aminotransferasa en suero sanguíneo humano. *Quim Clin* 1987; 6: 241-244.
2. Approved Recommendation (1985) on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes. Part 3: IFCC Method for Alanine Aminotransferase (EC 2.6.1.2). *J. Clin Chem Clin Biochem* 1986; 24: 481-495.
3. Gella FJ, Olivella T, Cruz Pastor M, Arenas J, Moreno R, Durban R and Gómez JA. A simple procedure for routine determination of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase with pyridoxal phosphate. *Clin Chim Acta* 1985; 153: 241-247.
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.
6. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.