

**УВАГА! ЗМІНА ЧИННИКА ПЕРЕРАХУНКУ!**

## **Інструкція**

### **з використання набору реагентів**

### **для визначення активності аланінамінотрансферази**

### **в сироватці або плазмі крові**

## **АЛТ-кін. СпЛ**

IN VITRO

Зберігати при 2-8°C

Набір розрахований на 50 визначень з урахуванням холостих проб при витраті робочого розчину відповідно цієї методики.

#### **Принцип методу**

Під дією ферменту аланін амінотрансферази (АЛТ) в результаті переамінування відбувається перенос аміногрупи з аланіну на  $\alpha$ -кетоглутарат. Утворений в даній реакції піруват за участю ферменту лактатдегідрогенази (ЛДГ) і коферменту НАДН<sub>2</sub> перетворюється в лактат.



Швидкість окислення НАДН<sub>2</sub> в ході другої реакції визначається по зменшенню оптичної щільності реакційного середовища при 340 нм і пропорційна активності АЛТ, що міститься у зразку і вимірюється на фотометрі.

#### **Клінічне значення**

АЛТ є клітинним ферментом, який знаходиться у високій концентрації в печінці та нирках. Висока концентрація спостерігається при гепатиті, при хворобах м'язів і травмах. Однак визначення активності АЛТ вважається більш специфічним для діагностики хвороб печінки. Визначення АЛТ в поєднанні з визначенням АСТ використовують для діагностики інфаркту міокарда. Оскільки обсяг АЛТ залишається в межах норми в присутності підвищених рівнів АСТ. Клінічний діагноз не повинен базуватися тільки на одному показникові, необхідно враховувати клінічні та інші лабораторні дані.

#### **Склад набору**

1. **Реагент 1.** Буфер: трис рН 7.8 - 100 ммоль/л, ЛДГ - 1200 МО/л, L-аланін - 500 ммоль/л.
2. **Реагент 2.** Субстрат: NADH – 0.18 ммоль/л,  $\alpha$ -кетоглутарат - 15 ммоль/л.
3. Інструкція з використання.
4. Паспорт.

#### **Аналітичні характеристики**

1. Лінійність вимірювального діапазону: 4 - 260 Од/л.  
Відхилення від лінійності не перевищує 7%. Якщо отримані результати були більше, ніж межі лінійності, розведіть зразки 1:9 (в десять разів) NaCl 9 г/л та помножьте результат на 10.
2. Чутливість не менш 3 Од/л.
3. Коефіцієнт варіації результатів визначень – не більш 7%.

#### **Матеріал для дослідження**

Сироватка або плазма крові. Стабільність зразків протягом 7 днів при 2-8°C. Досліджувані сироватки або плазми повинні бути ретельно відокремлені від формених елементів крові не пізніше, ніж через 1 годину після взяття крові. Уникайте використання мутних, ліпідних та гемолітичних зразків.

#### **Перелік необхідного устаткування**

- Спектрофотометричне або колориметричне обладнання з довжиною хвилі 340 нм.
- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 1 см.
- Загальне лабораторне обладнання.

**Прим:** Адаптації до напівавтоматичних і автоматичних приладів надаються за запитом

### Підготовка реагентів

Перед використанням набір витримати при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Приготування робочого реагенту **РР**: змішати 4 об'єми **Р1** (буфер) та 1 об'єм **Р2** (субстрат). **РР** стабільний 7 днів при 2-8°C або 24 години при кімнатній температурі 15-25°C.

### Проведення аналізу

- Умови вимірювання:
  - довжина хвилі 340 нм
  - кювета з товщиною оптичною шару 1 см
  - температура 25°C / 30°C / 37°C
- Налаштувати прилад на нуль відносно дистильованої води.
- Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрати та вносити в об'ємах, вказаних в таблиці.

РР, мл	1.0
Зразок, мкл	100

**Прим.** Об'єми реагенту та зразку можуть бути пропорційно змінені відповідно до робочого об'єму кювети використовуваного аналізатора.

- Перемішати, інкубувати протягом 1 хвилини.
- Виміряти первинну оптичну щільність (E) дослідного зразка, включити секундомір і виміряти E з інтервалом в 1 хвилину протягом 3-х хвилин.
- Підрахуйте різницю між E і середнє значення зміни E за хвилину ( $\Delta E/\text{хв}$ ).

### Розрахунок результатів

$$A = \Delta E/\text{хв} \cdot X \cdot (-1900)$$

де: A – активність АЛТ в дослідному зразку, Од/л.

$\Delta E$  – зміна оптичної щільності дослідного зразка за хвилину, одиниць оптичної щільності.

(-1900) – теоретичний чинник перерахунку для вираження активності АЛТ в Од/л.

Для корекції результатів при інших температурах потрібно множити на:

Температура при вимірюваннях	Чинник переходу		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1.00	1.32	1.82
30°C	0.76	1.00	1.39
37°C	0.55	0.72	1.00

Перехід в додаткові одиниці: Од/л x 0.01667 = мккат/л

### Референтні величини

Грунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

	25°C	30°C	37°C
Чоловіки до	22 Од/л	29 Од/л	40 Од/л
Жінки до	18 Од/л	22 Од/л	32 Од/л

Норми для новонароджених вище вдвічі, ніж у дорослих. Це пояснюється властивістю гепатоцитів у новонароджених. Цей рівень знижується до рівня дорослого приблизно на 3-му місяці життя новонародженого.

### Відтворюваність:

Значення, Од/л	Внутрисерійна (n=20)		Міжсерійна (n=20)	
	42	116	41,1	115
SD	0,47	0,42	0,76	1,61
CV, %	1,11	0,36	1,85	1,4

### Порівняння методів

Точність: результати отримані при використанні реагентів СпайнЛаб (y), при порівнянні з іншими комерційними реагентами (x) систематичних відхилень не виявлено.

Порівняння було проведено на 50 зразках.

Результати:

Коефіцієнт кореляції ( $r^2$ ): 0,99597

Рівняння регресії:  $y=1,1209x + 1,390$

Результати характеристик точності залежать від аналізатору, що використовується.

### Специфічність

Антикоагулянти (гепарин, ЕДТА, оксалат, флуорид) не впливають на визначення АЛТ.

Вплив гемолізу описано Murray R. Alanine aminotransferase. Kaplan A et al. Clin. Chem. The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1988-1090.

Перелік медикаментів та інших речовин, що впливають на визначення АСТ наведений у наступних виданнях: 1. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4<sup>th</sup> ed AACCC Press, 1995; 2. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4<sup>th</sup> ed AACCC Press, 2001.

### Контроль якості

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи наступний контрольний матеріал: «СпЛ Контроль НОРМА» («Лабораторія Гранум», Україна); «КОНТРОЛЬ НОРМА Biog», «КОНТРОЛЬ ПАТОЛОГІЯ Biog» (Spinreact, S.A. Іспанія), «ERBA NORM, PATH» (Чехія), «Cormay Serum HN, HP» (Польща), «ФИЛО-НОРМ, ФИЛО-ПАТ» (Україна). Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте апаратуру, реактиви та можливі технічні проблеми. Кожна лабораторія повинна встановити свої власні схеми контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

### Зберігання та стабільність

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, при зберіганні їх щільно закритими при 2-8°C, в захищеному від світла місці та уникаючи забруднення під час їх використання.

Не використовуйте реактиви після закінчення терміну придатності (12 міс.).

### Транспортування

Набори транспортують всіма видами закритого транспорту при температурі до 25°C.

Допускається транспортування при середньодобової температурі 37°C не більше 72 годин.

### Ознаки погіршення реагентів

- Присутність часток або помутніння.
- ОЩ холостого зразка при 340 нм < 1.00.