



Інструкція з використання набору реагентів для визначення концентрації аланінамінотрансферази в сироватці або плазмі крові АЛТ СпЛ

IN VITRO

Зберігати при 2-8 °С

Тільки для професійного використання.

Принцип методу

В основі визначення активності АЛТ з динітрофенілгідрозином лежить метод Райтмана-Френкеля. Аланінамінотрансфераза у присутності α -кетоглутарата каталізує реакцію переамінування L-аланіну з утворенням пірувату.

L-аланін + α -кетоглутарат $\xrightarrow{\text{АЛТ}}$ глутамат + піруват

Піруват з 2,4-динітрофенілгідрозином в лужному середовищі утворює динітрофенілгідрозон, інтенсивність кольору пропорційна концентрації АЛТ в зразку.

Клінічне значення

АЛТ - фермент, що бере участь у метаболізмі амінокислот в клітині.

Найбільший вміст у печінки, нирках, підшлунковій залозі, серцевому м'язі, скелетних м'язах. У клітині фермент локалізується в цитоплазмі, тому будь-яке пошкодження клітин призводить до збільшення його вмісту (активності) в крові. Органічні ураження при гострих або хронічних захворюваннях, що супроводжуються некрозом клітин будь-якої етіології, призводять до виходу АЛТ з області ураження в кров'яне русло, що призводить до підвищення їх активності в крові. Збільшення активності АЛТ у сироватці крові найбільш характерно при різних захворюваннях печінки, що супроводжуються некрозами (гепатити, токсичний вплив). АЛТ є показником оцінки тяжкості перебігу вірусних гепатитів В і С. Одночасне визначення активності двох амінотрансфераз (АЛТ і АСТ) є цінним діагностичним тестом. Активність АЛТ зростає при інфаркті міокарда, але в меншій мірі, ніж активність АСТ (аспартатамінотрансфераза). Для уточнення діагнозу проводять розрахунок коефіцієнта де Рітіса: співвідношення активностей АСТ/АЛТ. У нормі це становить 1.33 ± 0.42 . Різке перевищення цього показника свідчить про ураження серцевого м'яза. Також у якості біомаркеру в діагностиці інфаркту міокарда рекомендується використовувати визначення активності креатинфосфокінази МВ-типу (КФК-МВ).

Зниження коефіцієнта до 0.6 - 0.8 характерно при некрозі печінкових клітин при вірусних гепатитах.

Клінічний діагноз не повинен базуватися на одному показникові, необхідно враховувати клінічні та інші лабораторні дані.

Склад набору

- Реагент 1.** Субстрат: DL-Аланін - 200 mmol/l (ммоль/л); α -кетоглутарат - 2 mmol/l (ммоль/л).
- Реагент 2.** Проявник: 2,4-динітрофенілгідрозин - 1 mmol/l (ммоль/л).
- Реагент 3.** Натрію гідроксид 0.4 N концентрат 20x.
- Калібратор.** Розчин пірувату - 2.0 mmol/l (ммоль/л).
- Інструкція з використання.
- Сертифікат якості.

Аналітичні характеристики

- Лінійність вимірювального діапазону: 0.028 - 1.01 $\mu\text{kat/l}$ (мккат/л). Відхилення від лінійності не перевищує 6%. Якщо отримані результати були більше, ніж межі лінійності розведіть зразки NaCl 9 g/l (г/л) та помножте результат на фактор розведення.
- Чутливість не менш 0.028 $\mu\text{kat/l}$ (мккат/л).
- Коефіцієнт варіації результатів визначень - не більш 6%.

Матеріал для дослідження

Сироватка або плазма крові. Досліджувані сироватки або плазми повинні бути ретельно відокремлені від формених елементів крові не пізніше, ніж через 1 h (год) після взяття крові. Уникайте використання мутних, ліпідних та гемолітичних зразків.

Перелік необхідного устаткування

- Спектрофотометричне або колориметричне обладнання з довжиною хвилі 505 nm (нм).
- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 1 cm (см).
- Термостатична водяна баня 37 °С.
- Загальне лабораторне обладнання.

Прим: Адаптації до напівавтоматичних і автоматичних приладів надаються за запитом

Підготовка реагентів

Перед використанням набір витримати при кімнатній температурі протягом 30 min (хв).

P1, P2 готові до використання.

P3 розвести дистильованою водою 1:19 (у 20 разів).

Проведення аналізу

1. Умови вимірювання:

- довжина хвилі 505 (500-600) nm (нм)
- кювета з товщиною оптичною шару 1 cm (см)
- температура 15-25-37 °С

2. Налаштувати прилад на нуль відносно дистильованої води.

3. Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрати та вносити в об'ємах, вказаних в таблиці.

	Макроаналіз		Мікроаналіз	
	Холостий зразок	Дослідний зразок	Холостий зразок	Дослідний зразок
P1, ml (мл)	0.4	0.4	0.1	0.1
Інкубувати 3 min (хв) при 37 °С на водяній бані				
P2, ml (мл)	0.4	-	0.1	-
Зразок, ml (мл)	0.08	0.08	0.02	0.02
Змішати та інкубувати 60 min (хв) при 37 °С на водяній бані				
P2, ml (мл)	-	0.4	-	0.1
Змішати та інкубувати 20 min (хв) при кімнатній температурі				
P3, ml (мл)	4.0	4.0	1.0	1.0
Змішати та інкубувати 10 min (хв) при кімнатній температурі				

4. Виміряти оптичну щільність дослідної проби (E) проти відповідної холостої проби. Забарвлення стійке як мінімум 60 min (хв).

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

Розрахунок результатів

Розрахунок активності АЛТ в сироватці крові проведіть по калібрувальній кривій.

Вміст пірвіноградної кислоти в калібрувальній пробі:

	Калібрувальні крапки				
	1	2	3	4	5
mmol/l (ммоль/л)	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4
µg/ml (мкг/мл)	4.4	8.8	17.6	26.4	35.2
Активність в µmol/h*ml (мкмоль/год *мл)	0.5	1.0	2.0	3.0	4.0
Активність в µkat/l (мккат/л)	0.139	0.278	0.556	0.833	1.11

Компоненти для реакційної суміші для побудови графіку відберіть в кількостях, вказаних в таблиці:

	Калібрувальні крапки					Холоста проба
	1	2	3	4	5	
P1, ml (мл)	0.475	0.45	0.4	0.35	0.3	0.5
Калібратор, ml (мл)	0.025	0.05	0.1	0.15	0.2	-
Дист. вода/фіз.розчин, ml (мл)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
P2, ml (мл)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Змішати та інкубувати 20 min (хв) при кімнатній температурі						
P3, ml (мл)	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Змішати та інкубувати 10 min (хв) при кімнатній температурі. Виміряти оптичну щільність калібрувальних проб проти холостої проби. Забарвлення стабільне протягом 60 min (хв). Побудуйте калібрувальну криву, визначити концентрацію АЛТ в дослідних зразках.						

Референтні величини

Ґрунтуючись 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.

Нормальні рівні АЛТ в сироватці крові становить:

0.028-0.19 $\mu\text{kat/l}$ (мккат/л), або 0.1-0.68 $\mu\text{mol/h}\cdot\text{ml}$ (мкмоль/год *мл) при температурі 37 °С.

Перехід в додаткові одиниці: $\text{U/l (Од/л)} \times 0.01667 = \mu\text{kat/l (мккат/л)}$.

$\mu\text{kat/l (мккат/л)} \times 3.6 = \mu\text{mol/h}\cdot\text{ml (мкмоль/год *мл)}$

Значення, УЛ (Од/л)	Внутрисерійна (n=20)		Міжсерійна (n=20)	
	39	121	36,7	123
SD	0,45	0,39	0,74	1,52
CV, %	1,15	0,32	2,02	1,24

Порівняння методів

Точність: результати отримані при використанні реагентів виробництва ТОВ «ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ», при порівнянні з іншими комерційними реагентами (x) систематичних відхилень не виявлено.

Порівняння було проведено на 50 зразках.

Результати:

Коефіцієнт кореляції (r^2): 0,99674

Рівняння регресії: $y=1,1301x + 1,411$

Результати характеристик точності залежать від аналізатору, що використовується.

Специфічність

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

Контроль якості

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи «СпЛ Контроль Норма», «СпЛ Контроль Патологія» (ТОВ «ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ», Україна) або контрольний матеріал іншого виробника. Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте апаратуру, реактиви та можливі технічні проблеми.

Калібрування приладу проводиться перед використанням нової серії реагентів або у відповідності з вимогами до контролю якості лабораторії. Кожна лабораторія повинна встановити свої власні схеми контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

Примітки

Не змішуйте та не використовуйте в одній постановці реагенти різних серій.

Зберігання та стабільність

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати його щільно закритим при 2-8 °С. Під час використання реагентів запобігати забруднення та потрапляння прямих сонячних променів.

Вимоги безпеки та утилізації

1. Уникати потрапляння в рот, очі та на шкіру. В разі потрапляння, промити великою кількістю води та звернутися за консультацією до лікаря.
2. Використовувати засоби індивідуального захисту при роботі з набором.
3. Знезараження та утилізація реагентів, сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з чинним законодавством.

Транспортування


Набори транспортують всіма видами закритого транспорту при температурі до 25 °С.
Допускається транспортування при середньодобової температурі 37 °С не більше 72 h (год).

Гарантії виробника













1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам Технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики in vitro № 754 від 02.10.2013р. при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 12 mth (міс) з дня виготовлення набору.

Комплектація

	REF 1.010	REF 1.011	REF 1.012
Вміст	250 визн.	500 визн.	1000 визн.
P1	1 x 50 ml (мл)	1 x 100 ml (мл)	1 x 200 ml (мл)
P2	1 x 50 ml (мл)	1 x 100 ml (мл)	1 x 200 ml (мл)
P3	1 x 25 ml (мл)	1 x 50 ml (мл)	1 x 100 ml (мл)
Калібратор	1 x 4 ml (мл)	1 x 6 ml (мл)	1 x 8 ml (мл)

 ТОВ «ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ», Україна, 61001, м. Харків, вул. Франківська, 14.
Тел./факс: (057) 752-32-31, www.granum.ua

Символи на продукції

 Виробник	 Виготовлено: Дата виробництва	 Придатно до: Термін придатності	 Серія: Номер серії
 IVD	 Виріб медичний для діагностики in vitro	 Консультуйтеся з інструкцією із використання	 Температурне обмеження
 Берегти від сонячного світла	 Знак відповідності Технічним регламентам	 Засторога. Зверніться до інструкції з використання для отримання інформації щодо застережень, попереджень, запобіжних заходів	
			 Каталожний номер