ИНСТРУКЦИЯ
к набору реагентов для определения активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) кинетическим методом

Торговая форма и состав набора

Кат № 1.068.0.01	R1 Ферментный реагент R2 Субстратный раствор	1 фл * 80 мл 1 фл * 20 мл
Кат № 1.068.0.10	R1 Ферментный реагент R2 Субстратный раствор	1 фл * 800 мл 1 фл * 200 мл

Введение

Аланинаминотрансфераза (АЛТ) в основном содержится в печени и почках, в меньшем количестве – в скелетных мышцах и сердце. Активность фермента повышается при заболеваниях печени (цирроз печени, гепатит, опухоли печени), мышечные травмы, сердечная недостаточность, обширный инфаркт миокарда.

Принцип метода

Фотометрический метод определения активности АЛТ основан на следующей последовательности ферментативных реакций:

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

$$пируват + NADH + H^+ \xrightarrow{ЛДГ} лактат + NAD^+$$

Скорость уменьшения концентрации никотинамидадениндинуклеотида (NADH) пропорциональна каталитической активности АЛТ в образце, что измеряется фотометрически при длине волны 340 нм.

Аналитические характеристики набора:

Чувствительность: не более 15 Е/л
Линейность: до 240 Е/л
Коэффициент вариации: не более 5%.

Образцы и их стабильность

Сыворотка, гепаринизированная плазма крови. *Избегать гемолиза!!*

Подготовка реагентов для анализа и их стабильность

Приготовление рабочего реагента для схемы 1:

Смешать необходимые количества реагентов 1 и 2 в соотношении 4:1. *Не допускать вспенивания!*

Проведение анализа

Длина волны: 340 нм, температура измерений 37°С, кювета 1 см..

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

Схема 1. *Запуск реакции образцом*

Раствор	Опытная проба, мл
Рабочий реагент	1,0
Инкубировать 5 мин. при температуре 37°С	
Образец	0,1
Пробы тщательно перемешать. Через 60 с измерить оптическую плотность опытной пробы (A_1). Через 60 с повторить измерение (A_2)	

Рассчитать изменение оптической плотности за минуту ($A_1 – A_2$).

Схема 2. *Запуск реакции реагентом 2*

Раствор	Опытная проба, мл
Реагент 1	0,8
Образец	0,1
Перемешать, инкубировать 5 мин. при температуре 37°С	
Реагент 2	0,2
Пробы тщательно перемешать. Через 60 с измерить оптическую плотность опытной пробы (A_1). Через 60 с повторить измерение (A_2)	

Рассчитать изменение оптической плотности за минуту ($A_1 – A_2$).

Расчет

Каталитическую активность АЛТ (в Е/л) в исследуемой пробе определяют по формуле:

Е/л = ΔА/мин * F

Величина F при λ=340 нм, длине оптического пути 1 см и 37°С:

F=1746

Фактор F=1746 является теоретически рассчитанным.

Параметры для автоматических биохимических анализаторов серии Mindray BS-120/200/300/330/400

При работе с отдельными реагентами:

Настройки для анализатора	
Тест	ALT
№	*
Полное название	АЛТ
№ стандарта	*
Тип реакции	Кинетика
Измерение против	Воздуха или дистилл. воды
Направление	Нисходящая
Время реакции	4-12 комп.
Время инкубации	19
Температура измерений	37°С
Единицы	Е/л
Точность	1
Соотношение реагент/проба	10 : 1
Объем R1	160 мкл
Объем R2	40 мкл
Объем пробы	20 мкл
R1 холост	0–0
Смеш холост реаг	0–0
Диапазон линейности	до 240 Е/л
Предел линейности	-
Чувствительность	не более 15 Е/л
Коэффициент вариации	не более 5%
Верхний пределе абсорбции реагента против воды	2 Е
Нижний пределе абсорбции реагента против воды	0,8 Е
Предел субстр	0
Коэффициент	-
КАЛИБРОВКА	
Правило калибровки	Двухточечная линейная
Чувствительность	0
Повторы	2
Интервал	0
SD	-
Холостой ответ	0
Предел ошибки	0
Коэффициент корреляции	-

При работе с Рабочим реагентом меняются следующие параметры:

Время реакции	4-12 комп.
Время инкубации	-
Единицы	Е/л
Точность	1
Объем R1	150 мкл
Объем R2	-
Объем пробы	15 мкл

Правило калибровки – линейная, на выбор:
Двухточечная линейная (физраствор/вода +стандарт из набора 1-го уровня)
двухточечная линейная (физраствор/вода + мультикалибратор 1-го уровня)
многоточечная линейная (физраствор/вода + стандарт из набора 1-го уровня + разведенный 1:1 стандарт из набора в качестве 2-го уровня)
Многоточечная линейная (физраствор/вода + мультикалибратор 1-го уровня +мультикалибратор 2-го уровня)

Нормальные значения

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

Примечания

- Использовать только для диагностики in vitro.
- Реагенты содержат азид натрия в качестве консерванта: избегать попадания на кожу и слизистые!
- Пробы, содержащие АЛТ с активностью выше 240 Е/л (изменение оптической плотности за 1 минуту (ΔА/мин) составляет более 0,135) , разводят 0,9% раствором NaCl в соотношении 1:1, а полученный результат умножают на 2. А в случае слишком низких значений активности АЛТ пробы необходимо развести 0,9% раствором NaCl в соотношении 1:9, а полученный результат умножают на 10.
- Реагенты пригодны к использованию, если оптическая плотность рабочего реагента больше 0,900 (измерять при комнатной температуре относительно дистиллированной воды при длине волны 340 нм в кювете с длиной оптического пути 1 см).

Перерасчет единиц

1 Е/л = 1 мкмоль/(мин*л)
1 кат/л = 1 моль(сек*л)
1 мккат/л = 60 Е/л

Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться при температуре 2-8°С в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (12 месяцев) в темном месте. Рабочий реагент стабилен в течение 7 дней при температуре 2-8°С или 48 часов при температуре 15-25°С.

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