ALT(ALT/GPT)

Набор для определения активности аланинаминотрансферазы (согласно IFCC), без активации пиридоксальфосфатом

Информация для заказа

Номер по каталогу	Фасовка
ALT0102	R1 4×35 мл + R2 2×18 мл
ALT0103	R1 6×40 мл + R2 2×32 мл
ALT0105	R1 2×250 мл + R2 1×125 мл

Назначение

Реагент ALT предназначен для количественного определения активности аланинаминотрансферазы в сыворотке или плазме фотометрическим кинетическим методом.

Сводка[1, 2]

Аланинаминотрансфераза (EC 2.6.1.2, ALT, она же глутамат пируват трансаминаза, GPT), является одним из ферментов печени. Она катализирует обратимое превращение аминокислот в α-кетокислоты за счет переноса аминогрупп. Повышение уровня ALT может указывать на инфаркт миокарда, или мышечную дистрофию, особенно при заболеваниях печени. Измерение ALT часто используется для диагностики и мониторинга заболеваний печени и сердца. Также для диагностики заболеваний печени часто используется отношение AST/ALT: если отношение AST/ALT< 1, это указывает на незначительное повреждение печени; в противном случае это указывает на серьезные, зачастую хронические повреждения печени.

Метод[3]

УФ метод согласно рекомендациям IFCC (Международной федерации клинической химии и лабораторной медицины) без активации пиридоксальфосфатом.

Принцип реакции

$$\alpha\text{-оксоглутарат} + \text{L-аланин} \xrightleftharpoons{\text{ALT}} \text{L-глутамат} + \text{пируват}$$

$$\text{пируват} + \text{NADH} + H^+ \xrightleftharpoons{\text{LDH}} \text{L-лактат} + NAD^+$$

Аланинаминотрансфераза катализирует обратимое трансаминирование L-аланина и α-оксоглутарата до пирувата и L-глутамата. Пируват затем восстанавливается до лактата в присутствии лактатдегидрогеназы (LDH) с одновременным окислением восстановленного β-никотинамидадениндинуклеотида (НАДН) до НАД. Это вызывает изменение поглощения, прямо пропорциональное активности ALT в пробе.

Реагент

Компоненты и концентрации

R1:	Трис-буфер	150 ммоль/л
	L-аланин	750 ммоль/л
	LDH	≥1200 Ед/л
R2:	α-оксоглутарат	90 ммоль/л
	НАДН	0,9 ммоль/л

Предупреждения и меры предосторожности

1. Только для диагностики in vitro.
2. При использовании лабораторных реактивов соблюдайте необходимые меры предосторожности.
3. Содержит азид натрия. Не глотать. Избегайте контакта с кожей и слизистыми оболочками.
4. Утилизируйте все отходы в соответствии с местными правилами утилизации.
5. Паспорт безопасности материала предоставляется пользователям по запросу.

Подготовка реагентов

Реагенты R1 и R2 готовы к использованию.

Хранение и стабильность

Стабилен до истечения срока годности, указанной на этикетке, если хранится в закрытой фирменной упаковке при 2°C—8°C и защищен от света.

После вскрытия флакона реагент остаётся стабильным в течение 28 дней, если хранится в холодильнике или в охлаждаемом отсеке анализатора.
Не допускайте загрязнения реагентов.
Не замораживайте реагенты.

Оптическая плотность реагента

Оптическая плотность реагента при 340 нм должна быть ≥1,0 А.

Реагент бланк

Для определения реагент бланка (холостой пробы по реагенту), пробу заменяют физиологическим раствором (9 г/л NaCl) или водой. Если скорость изменения оптической плотности реагента (ΔA/с) превышает 0,0005, необходимо повторить измерения и при необходимости заменить раствор реагента.

Необходимые материалы, не входящие в набор

1. Калибраторы и контроли, указанные ниже.
2. Раствор NaCl, 9 г/л.
3. Общее лабораторное оборудование.

Сбор и подготовка проб

1. В качестве образцов можно использовать сыворотку, гепаринизированную плазму или плазму с ЭДТА. Не рекомендуется использовать цельную кровь, гемолизат и мочу. Лучше всего использовать свежую сыворотку или плазму.
2. Используйте подходящие пробирки или ёмкости для сбора проб, соблюдайте инструкции производителя, материал пробирок или ёмкостей не должен реагировать с образцом.
3. Если пробы содержат осадок, отцентрифугируйте их перед началом анализа.
4. Стабильность: 4 часа при 15°C—25°C
   5-12 часов при 2°C—8°C
   2 дня при (-15) °C—(-20)°C.

Процедура анализа

	бланк	Проба
Реагент 1	1000 мкл	1000 мкл
Дист. вода	100 мкл	—
Проба	—	100 мкл
Перемешать, инкубировать 5 мин, затем добавить:		
Реагент 2	250 мкл	250 мкл
Тщательно перемешать, через 1 минуту измерить поглощение и засечь время. Измерить поглощение еще через 3 минуты.		
ΔA/мин = [ΔA/мин пробы]- [ΔA/мин холост.]		

В данном документе приведены инструкции для анализаторов серии BS. Инструкции по использованию на анализаторах других моделей см. в соответствующих руководствах по эксплуатации.

Калибровка

1. Рекомендуется использовать мультикалибратор Human производства компании Randox. Сведения о прослеживаемости мультикалибратора содержатся в его инструкции по использованию, предоставляемой компанией Randox.
2. Частота калибровки:
   При смене лота реагентов.
   В случае значительного расхождения результатов контроля качества.

Контроль качества

Для каждой партии проб необходимо проанализировать как минимум два уровня контрольных проб. Эти пробы должны выполняться при каждой новой калибровке, каждом новом лоте реагентов и после некоторых процедур технического обслуживания, как указано в руководстве по эксплуатации системы.
Для контроля качества рекомендуется использовать контрольные сыворотки Human Assayed Control уровней II и III компании Randox.
В каждой лаборатории должна быть установлена своя внутренняя схема контроля качества и меры, которые следует предпринимать при выходе результатов контролей за допустимые пределы.

ALT(ALT/GPT)

Вычисления

Анализатор автоматически вычисляет активность каждого образца с учетом калибровочного коэффициента (фактора), полученного при проведении калибровки.

Коэффициент перевода традиционных единиц (Ед/л) в единицы СИ (мккат/л):

1 Ед/л = 16,67×10^{-3} мккат/л, 1 мккат/л= 60 Ед/л

Референсные интервалы

В каждой лаборатории должны быть установлены свои референсные интервалы, характерные для данной местности и контингента пациентов. Приведенные ниже референсные интервалы, соответствующие исследованиям при 37 °C, взяты из литературных источников[3].

Проба	Традиционные единицы	Единицы СИ
Мужчины	≤45 Ед/л	≤0,75 мккат/л
Женщины	≤34 Ед/л	≤0,57 мккат/л

Рабочие характеристики

Ниже приведены типичные рабочие характеристики для систем Mindray. Результаты могут различаться в зависимости от прибора, лаборатории или при использовании ручной процедуры исследования.

Влияющие вещества /Специфичность

Следующие вещества были проверены на влияние на результаты анализа. Критерий: получение результата в пределах ± 10 % от исходного значения.

Вещество	Уровень	Наблюдаемый эффект
Аскорбиновая кислота	30 мг/дл	НВ*
Билирубин	40 мг/дл	НВ
Гемоглобин	500 мг/дл	НВ
Липемия	500 мг/дл	НВ
* НВ: Не влияет (в пределах ± 10 %)		

Аналитический диапазон

Система Mindray (анализатор серии BS / реагент Mindray ALT) обеспечивает исследования в следующих пределах:

Проба	Традиционные единицы	Единицы СИ
Сыворотка / Плазма	4—500 Ед/л	0,07—8,33 мккат/л

Если активность пробы превышает 500 Ед/л, пробу следует развести физиологическим раствором 9 г/л NaCl (например 1+9) и повторить анализ с этим разведением, полученный результат следует умножить на 10.

Чувствительность / Предел обнаружения

Минимальная измеряемая активность ALT составляет 4 Ед/л (0,07 мккат/L) с надежностью 99,7%.

Воспроизводимость

Воспроизводимость, полученная на контрольной сыворотке в соответствии с рекомендациями руководства NCCLS EP5-A приведена в таблице[4]. Ед.: Ед/л

Тип погрешности	Контроль II			Контроль III		
	Среднее	SD	CV%	Среднее	SD	CV%
В пределах серии	32,5	0,62	1,91	124,6	0,75	0,60
Между сериями		0,36	1,10		0,59	0,48
Между днями		1,25	3,85		3,08	2,47
Общая		1,44	4,44		3,22	2,59

Сопоставление методов

Сравнение системы Mindray (анализатор серии BS / реагент Mindray ALT) (y) и Hitachi/Roche (Hitachi /Roche ALT, IFCC) (x) на 40 пробах показало следующую корреляцию (Ед/л): y = 1,0508x + 1,5685, r = 0,999. Более подробная информация об исследованиях корреляции предоставляется по запросу.

Литература

1. Thomas L. Alanine aminotransferase (ALT), Aspartate aminotransferase (AST). In:Thomas L, editor. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft, 1998:55-65.
2. Greiling H, Gressner AM, eds. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3rd ed. Stuttgart/New York: Schattauer Verlag, 1995.
3. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, et al. IFCC primary reference procedure for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 4. Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Concentration of Alanine Aminotransferase. Clin Chem Lab Med 2002;40:718-724.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline, NCCLS publication EP5-A 1999, Vol.19, No.2.

Параметры программирования для анализаторов серии BS

Экран параметров		BS-120	BS-200	BS-300	BS-380	BS-400
Тип реакции		Кинетический				
Направление		Уменьшен				
Единицы		Ед/л				
Точный/Десятичный		0,1	0,1	1	0,1	0,1
Перв. длина волны		340				
Втор. длина волны		405			412	
Объем пробы （мкл）		20				
R1（мкл）		200				
R2（мкл）		50				
Реак. время	От	3	4	5	41	50
	До	13	15	20	56	69
Время инкубации		/	8	10	/	/
Холост. время		/				
Область линейности	От	4				
	До	500				
Предел субстрата		5000				
Коэффициент						
Экран «Калибровка»						
Правило		Линейная по 2 точкам				
Повторы		3-5				

© 2010 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd. All rights Reserved

SHENZHEN MINDRAY BIO-MEDICAL ELECTRONICS CO., LTD.
Mindray Building, Keji 12th Road South, Hi-tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen, 518057 P.R. China
EC REP Shanghai International Holding Corp. GmbH(Europe)
Eiffestraβe 80, 20537 Hamburg Germany