

АЛАНИНАМИНОТРАНСФЕРАЗА ДиаВетТест



Набор ветеринарных диагностических реагентов для определения активности аланинаминотрансферазы в крови животных.

Аланинаминотрансфераза (АЛТ/АЛАТ) - это фермент печени аминотрансферазы, катализирующий процесс переноса аминогрупп и превращения α -кето кислот в аминокислоты. Повышение АЛТ у животных происходит при нарушении проницаемости мембран гепатоцитов, обусловленное повреждением, регенераторной активностью или метаболическими изменениями в печени. Уровень АЛТ у животных в крови повышается после поражения печени. Незначительно увеличивается активность АЛТ и при инфаркте миокарда. Для дифференциальной диагностики большое значение имеет коэффициент Ритиса = АСТ/АЛТ. В норме коэффициент Ритиса равен 1,1-1,3. Его значение снижается при паренхиматозных поражениях печени; при инфаркте миокарда он, напротив, значительно возрастает.

Показания к исследованию

- Заболевания печени различной этиологии.

Информация для заказа

Кат. №	Состав, мл		Объём, мл
	Реагент 1	Реагент 2	
DV 772 001	2x68	2x17	170
DV 772 002	6x68	6x17	510

Метод

Оптимизированный УФ тест без пиродоксальфосфата. Аланинаминотрансфераза катализирует в присутствии α -кетоглутарата переаминирование L-аланина с образованием пирувата. В присутствии лактатдегидрогеназы происходит окисление НАДН. Скорость окисления НАДН прямо пропорциональна активности аланинаминотрансферазы и измеряется фотометрически при длине волны 340 нм.

Аналитические характеристики

- Линейность в диапазоне от 20 до 260 Е/л.
- Отклонение от линейности не превышает 5%.
- Чувствительность – не более 15 Е/л.
- Коэффициент вариации – не более 5%.

При активности аланинаминотрансферазы в сыворотке крови более 260 Е/л (изменение оптической плотности пробы в минуту ΔA /мин не должно превышать 0,16) анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором в 5 раз, повторить анализ и полученный результат умножить на 5.

Контроль качества

При работе на биохимических анализаторах рекомендуется использовать мультикалибратор TruCal U фирмы DiaSys. Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов проводите измерения контрольных сывороток TruLab N и P (без P5P 37 °C), DiaSys, Германия.

Подготовка животного к исследованию

У моногастричных животных кровь берут до кормления в утренние часы, у жвачных – утром, через 4 часа после кормления. Можно пить воду.

Исследуемые образцы

Негемолизированная сыворотка крови. Сыворотку крови следует отделить от форменных элементов крови не позднее, чем через 1 час после забора крови. Стабильность в сыворотке: снижается на 10% через 3 дня при 4°C, на 17 % при температуре 15–25°C. Встряхивание крови в процессе взятия, при хранении, транспортировке может вызвать гемолиз, что ведет к завышению концентрации аланинаминотрансферазы.

Меры предосторожности

1. В реагентах 1 и 2 содержится токсичный компонент – азид натрия. При работе с ними следует соблюдать осторожность и не допускать попадания на кожу и слизистые. Не глотать! Избегать контакта реактивов с кожей и слизистыми.
2. Обычные меры предосторожности, принимаемые при работе с лабораторными реактивами.

Подготовка к анализу

Монореагентная схема — запуск реакции образцом.

Для приготовления рабочего реагента: смешать 4 объема реагента 1 и один объем реагента 2. Тщательно закрыть флаконы с реагентами 1 и 2 после отбора аликвот. Оставить свежеприготовленный рабочий реагент на 20-30 мин при комнатной температуре (15-25°C) для уравнивания компонентов смеси. Рабочий реагент можно хранить при температуре 2-8° С не более месяца или при комнатной температуре (15-25°C) не более 5 суток.

Биреагентная схема — запуск реакции субстратом.

Реагенты 1 и 2 готовы к использованию.

Проведение анализа

Перед проведением анализа рабочий реагент следует нагреть до температуры $37 \pm 1,0^\circ\text{C}$ в течение 5 мин. Компоненты реакционной смеси отбирать в количествах, указанных в таблице.

Монореагентная схема – запуск реакции образцом.				Биреагентная схема — запуск реакции субстратом.			
Отмерить, мкл	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Опытная проба	Отмерить, мкл	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Образец/ Мультикалибратор	-	100	100	Образец/ Мультикалибратор	-	100	100
Рабочий реагент	-	1000	1000	Реагент 1	-	1000	1000
				Перемешать, инкубировать 5 мин, затем добавить:			
				Реагент 2	-	250	250
Пробу и рабочий реагент перемешать. Через 1 мин измерить оптическую плотность (A_1) и включить секундомер. Измерить оптическую плотность (A_2) через 1, 2 и 3 мин при длине волны 340 нм, при 37°C , относительно холостой пробы, в кюветках с длиной оптического пути 1 см				Перемешать. Через 1 мин измерить оптическую плотность (A_1) и включить секундомер. Измерить оптическую плотность (A_2) через 1, 2 и 3 мин при длине волны 340 нм, при 37°C , относительно холостой пробы, в кюветках с длиной оптического пути 1 см.			

Вычислить среднее значение $\Delta A/\text{мин}$ образца/мультикалибратора.

Примечание. При использовании автоматических или полуавтоматических биохимических анализаторов количество реагентов и анализируемых образцов может быть пропорционально изменено в зависимости от объема используемой кюветы (соотношение сыворотки крови к рабочему реагенту составляет 1:10).

Адаптации для Вашего анализатора запрашивайте дополнительно.

Расчёты: По фактору

Для определения активности аланинаминотрансферазы по фактору калибратор не требуется. Из значений оптической плотности вычислить $\Delta A/\text{мин}$ и умножить на соответствующий фактор из нижеследующей таблицы:

$$\text{Активность АЛТ (Е/л)} = \Delta A/\text{мин} \times \text{фактор}$$

$$\text{Запуск субстратом} \quad 2143$$

$$\text{Запуск образцом} \quad 1745$$

Значение фактора рекомендуется уточнять по мультикалибратору TruCal U, а контроль качества проводить по сывороткам TruLab N и TruLab P производства компании DiaSys.

По калибратору:

$$\text{Активность АЛТ (Е/л)} = \frac{\Delta A / \text{мин}_{\text{образца}}}{\Delta A / \text{мин}_{\text{мультикалибратора}}}, \times \text{активность АЛТ в мультикалибраторе (Е/л)}$$

Примечание. 1 Е/л = 16,67 нмоль/л/(с × л).

Интерпретация результатов исследования

Единицы измерения в лаборатории: Ед/л.

Референсные значения: собака – 8,2-57,3 Ед/л, кошка – 8,3-52,5 Ед/л, лошадь – 2,7-20,5 Ед/л, крупный рогатый скот – 6,9–35,3 Ед/л, свинья – 21,7-46,5 Ед/л.

Повышение уровня аланинаминотрансферазы:

- повреждения гепатоцитов любой этиологии (инфекции, токсическое воздействие, метаболические нарушения, неопластические процессы, обструкция желчных протоков);
- нарушение кровообращения;
- гипоксия печени;
- обширная травма и некроз скелетных мышц;
- эндогенное или экзогенное повышение уровня кортикостероидов у собак;
- острые панкреатиты.

Понижение уровня аланинаминотрансферазы:

- обширный некроз и цирроз печени;
- дефицит пиридоксальфосфата (витамина В6).

Транспортирование, условия хранения и эксплуатации набора

Транспортирование и хранение наборов должно производиться при температуре $2-8^\circ\text{C}$ в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается транспортирование и хранение наборов при температуре до 25°C не более 5 суток. Замораживание компонентов набора не допускается.

Срок годности набора – 18 месяцев.

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов могут храниться при температуре $2-8^\circ\text{C}$ в защищенном от света месте в течение всего срока годности наборов при условии достаточной герметичности флаконов.

Рабочий реагент можно хранить при температуре $2-8^\circ\text{C}$ не более месяца или при комнатной температуре ($15-25^\circ\text{C}$) не более 5 суток.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

Обезвреживание отходов

Утилизацию отходов после проведения исследования следует проводить в соответствии с местными правилами.

Литература

1. Boyd J.W. The interpretation of serum biochemistry test results in domestic animals, in Veterinary Clinical Pathology, Veterinary Practice Publishing Co., Vol. XIII, # II, 1984.
2. Кондрахин И.П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики. – М.: 2004.
3. Медведева М.А. Клиническая ветеринарная лабораторная диагностика. – М.: «Аквариум Принт», 2013 – 416 с.
4. Холод В.М. Справочник по ветеринарной биохимии. – В.: 2005.

5. Guder W.G., Zawta B. et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001.

6. Д. Мейер, Дж. Харви. Ветеринарная лабораторная медицина. Интерпретация и диагностика. Пер. с англ. – М. : Софион. 2007, 456 с.

Изготовитель: АО «ДИАКОН-ДС», 142290, Московская область, г. Пущино, ул. Грузовая, д. 1а.

По вопросам, касающимся качества набора ([АЛАНИНАМИНОТРАНСФЕРАЗА ДиаВетТест](#)), следует обращаться в [ООО «ДИАКОН-ВЕТ»](#) по адресу: 142290, г. Пущино, Московской обл., ул. Грузовая 1а; тел. (495) 980-63-39; доб. 56-24/55-97.