**Набор для исследования Аланинаминотрансферазы (ALT)**

**Метод: Аланинсубстратный**

|  |  |
| --- | --- |
| **Упаковка** | **Анализатор** |
| R1: 2×20 мл  R2: 1×10 мл | Полуавтоматические анализаторы |
| R1: 2×60 мл  R2: 2×15 мл | Для Hitachi 917  & Beckman серий AU480/680/5811/5821 |
| R1: 6×60 мл  R2: 2×45 мл | Для Hitachi 917  & Beckman серий AU480/680/5811/5821 |
| R1: 4×100 мл  R2: 2×50 мл | Для Hitachi серий 717/911/912 & Shimadzu серий CL7200/8000 |
| R1: 2×50 мл  R2: 1×25 мл | Для Hitachi 902 |
| **R1: 2×80 мл**  **R2: 2×40 мл** | Для SYNCHRON серий CX4-5-7-9/LX20/DXC600-800 |
| R1: 5×48 мл  R2: 2×30 мл | Для анализаторов TOSHIBA |
| R1: 24×4,3 мл  R2: 6×4,3 мл | Для Siemens Dupont/Siemens Behring |

**НАЗНАЧЕНИЕ**

Для количественного *in vitro* определения Аланинаминотрансферазы в сыворотке крови как на автоматических анализаторах, так и вручную.

**КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ**

Аланинаминотрансфераза (ALT), также известная как глутаматпуриваттрансаминаза (GPT), представляет собой фермент, участвующий в метаболизме аминокислот. Она обнаружена во многих тканях организма, а максимального уровня достигает в тканях печени и почек. Разрушение тканей ведет к высвобождению межклеточного фермента в систему кровообращения. Значительное повышение уровня ALT в сыворотке характерно при различных заболеваниях печени, например, гепатите, мононуклеозе и циррозе. Такие высокие уровни ALT обычно не наблюдаются при других заболеваниях, таких как инфаркт миокарда и т.п., таким образом, ALT может считаться надежным специфическим маркером заболеваний печени.

**ПРИНЦИП ОПРЕДЕЛЕНИЯ[1, 2]**

Присутствующая в пробе ALT катализирует переход аминогрупп от L-аланина в α-кетоглутарат с образованием пирувата и L-глутамата. Пируват в присутствии NADH и лактатдегидрогеназа восстанавливаются до L- лактата. В этой реакции NADH окисляется до NAD, что сопровождается снижением оптической плотности. Реакцию можно отследить, измеряя скорость изменения оптической плотности на длине волны 340 нм.

ALT

L-аланин +α-кетоглутарат－－→оксалацетат +L-глутамат

LDH

пуриват + NADH + H+ －－－→ L-лактат + NAD+ + H2O

**СОСТАВ РАСТВОРОВ**

|  |  |
| --- | --- |
| **Состав** | **Концентрация растворов** |
| **Реагент 1 (R1)** |  |
| Трис-буфер (pH=7,5) | 100 ммоль/л |
| L-аланин | 500 ммоль/л |
| LDH | ≥1200 ед./л |
| **Реагент 2 (R2)** |  |
| NADH | 0,18 ммоль/л |
| α-кетоглутарат | 15 ммоль/л |

**ВЗЯТИЕ И ПОДГОТОВКА ПРОБ**

Рекомендуется использовать свежие пробы сыворотки. Пробы стабильны в течение 7 дней при 2-8℃.

**СТАБИЛЬНОСТЬ И ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ**

Все реагенты готовы к применению.

Стабильны вплоть до истечения срока годности при 2-8℃.

На борту анализатора реагенты стабильны в течение 28 дней после вскрытия упаковки.

**МЕТОДИКА ТЕСТА**

Методика теста приведена на примере анализаторов HITACHI 917.

Метод анализа: кинетика А, 20-34.

Длина волны (осн./доп.): 340 нм/405 нм.

Проба: 10 мкл

R1: 200 мкл R2: 50 мкл

Измерение Измерение

37℃

0 5 6 9 (мин.)

1. Смешайте 10 мкл пробы с 200 мкл R1, инкубируйте при 37℃ в течение 5 минут.
2. Добавьте 50 мкл R2 в кювету, перемешайте и инкубируйте в течение 30 секунд при 37℃.
3. Измерьте начальную оптическую плотность, одновременно запустив таймер, и выполните повторные измерения через 1, 2 и 3 мин.
4. Рассчитайте изменение оптической плотности в минуту ΔA/мин.

**КАЛИБРОВКА**

В данном тесте рекомендуется использовать калибратор GCell либо калибратор RANDOX.

**РАСЧЕТ**

**Расчет при использовании калибратора**

ΔAпробы /мин

Концентрация = × Значение калибратора

ΔAкалибратора/мин

**Расчет при использовании фактора** (ε=6.22)

A/min×Vt

AST (ед./л) = ×1000 = A/min× K ε×Vs×L

K= 4180

**КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА**

Для ежедневного контроля качества рекомендуется использовать контроль GCell или мультисыворотку Randox. Полученные значения должны попадать в указанный диапазон. Если полученные значения выходят за рамки диапазона, и повторный тест исключает ошибку, следует выполнить следующие действия:

1. Проверьте адаптации и источник света.
2. Проверьте температуру реакции.
3. Проверьте срок годности набора и его компонентов.

**РЕФЕРЕНСНЫЕ НОРМЫ**

Рекомендуется устанавливать референсные нормы в каждой лаборатории с учетом вида животного, возраста, пола и географического места проживания популяции.

**АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

**ЛИНЕЙНОСТЬ**

Область линейности данного метода распространяется до 1000 ед./л. Если концентрация аналита в пробе превышает указанную величину, пробу следует развести 0,9% раствором NaCl и выполнить повторный тест. Результат следует умножить на коэффициент разведения.

**ТОЧНОСТЬ (ПРЕЦИЗИОННОСТЬ)**

Значение CV теста не должно превышать 10%.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Точность в рамках 1 определения** | | |
| N=20 | Уровень 1 | Уровень 2 |
| Среднее значение | 39,3 | 141,5 |
| SD | 0,5 | 0,8 |
| CV | 1,2% | 0,5% |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Точность между определения** | | | |
| N=5 | Изм. 1 | Изм. 2 | Изм. 3 |
| Среднее (ед./л) | 37,7 | 37,3 | 38,0 |
|  | 37,7 | | |
| (Xmax- Xmin)/ | (38,0-37,3)/37,7\*100=1,77% | | |

**МЕШАЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ**

Было показано, что следующие аналиты не оказывают мешающего влияния вплоть до указанных уровней:

Гемоглобин: 500 мг/дл

Триглицериды: 1000 мг/дл

Общий билирубин: 40 мг/дл

Аскорбиновая кислота: 50 мг/дл.

**МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ**

1. Только для *in vitro* диагностики. Не раскапывать с помощью рта. Соблюдайте обычные меры предосторожности при обращении с лабораторными реагентами.
2. Реагент содержит азид натрия. Избегайте попадания внутрь и контакта с кожей и слизистыми. При попадании на кожу промойте место контакта большим количеством воды, при попадании в глаза или проглатывании немедленно обратитесь к врачу.
3. Азид натрия реагирует со свинцом и медью с образованием потенциально взрывоопасных азидов. При утилизации подобных реагентов следует промыть слив большим количеством воды во избежание отложения азидов. Металлические поверхности следует промыть 10% раствором гидроксида натрия.
4. Все пробы следует рассматривать как потенциально инфицированные (вирусы иммунодефицита, гепатита В, гепатита С) и обращаться с ними с особой осторожностью.
5. Не смешивайте реагенты различных лотов.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Wroblewski F, La Due J.S: Ann. Intern. Med. 1956; 45:801.
2. Wroblewski F, La Due J.S: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1956; 91:569.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| |  |  | | --- | --- | |  | | |  |  | |  |  | |  |  | |  |  | |  |  | |  |  | |  |  | |  |  | |  |  | |