АЛТ – АСТ (ALT–AST (GPT–GOT)) 1001165, 1001175

Аланинаминотрансфераза АЛТ (К.Ф. 2.6.1.1) и Аспартатаминотрансфераза АСТ (К.Ф. 2.6.1.1). Колориметрический метод по Райтману-Френкелю.

IVD (для диагностики in vitro) Хранить при 2–8°C.

Код: 1001165 (AST) 2x250 мл Код: 1001175 (ALT) 2x250 мл

ПРИНЦИП МЕТОДА

Аминотрансферазы, аланинаминотрансфераза (АЛТ) и аспартатаминотрансфераза (АСТ), катализируют перенос аминогрупп глютаминовой кислоты к оксалоуксусной кислоте и пировиноградной кислоте в обратимой реакции. Активность трансаминаз прямо пропорционально количеству оксалоацетата или пирувата, формирующихся в течение определенного времени и измеряемого по реакции с 2,4-динитрофенилгидразином (ДНФГ) в щелочном растворе[1,2].

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Трансаминазы АЛТ и АСТ – это клеточные ферменты, представленные в высокой концентрации в сердечной мышце, клетках печени, скелетной мускулатуры и в небольших количествах в других тканях. Хотя повышенные уровни АЛТ и АСТ в сыворотке не специфичны для заболеваний печени, они используются в основном для диагностики и верификации причин этих заболеваний. Использование АЛТ совместно с АСТ помогает в диагностике инфаркта миокарда, при этом значения АЛТ остаются в нормальных пределах, а уровни АСТ повышены[1,2,5,6]. Клинический диагноз не может быть поставлен по результату одного теста, он должен определяться по совокупности клинических и других лабораторных данных.

РЕАГЕНТЫ

Кат.№ 1001165 (AST)			
Реагент 1a (R1a) Субстрат АСТ	DL-аспартат α-Кетоглутарат	pH 7.4	100 ммоль/л 2 ммоль/л
Кат.№ 1001175 (ALT)			
Реагент 1b(R1b) Субстрат АЛТ	DL-аланин α-Кетоглутарат	pH 7.4	200 ммоль/л 2 ммоль/л
Реагент 2 Цветной реагент	2,4-динитрофенилгидразин (DNPH)		1 ммоль/л
ALT–AST R&F Cal	калибратор пирувата		1,2 ммоль/л
Дополнительный реагент: NaOH 0,4N			

ПОДГОТОВКА

Все реагенты готовы к использованию.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Все компоненты набора стабильны до указанной на упаковке даты (expiration date) в плотно закрытом флаконе при 2-8°C, в защищенном от света месте и с соблюдением правил, предотвращающих контаминацию при использовании. Не используйте реагенты после окончания срока годности.

Признаки порчи реагентов:

- присутствие частиц или мутности.

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

- Спектрофотометр и колориметр с фильтром 505 нм (или биохимический анализатор).
- Термостат с температурой 37°C (± 0,1°C) (или биохимический анализатор).
- Соответствующие кюветы с оптическим путем 1,0 см.
- Общее лабораторное оборудование.

ПРОБЫ

Сыворотка без гемолиза. АЛТ и АСТ стабильны в сыворотке при 2-8°C 7 дней.

ОБЩИЕ ИНСТРУКЦИИ

Реагенты могут быть использованы с различными автоматическими биохимическими анализаторами или в ручных процедурах на фотометрах с подходящей длиной волны.

ПРОЦЕДУРА

1. Условия теста:
   Длина волны 505 нм
   Кювета оптический путь 1 см
   Температура 15-25 и 37°C
   Метод: По конечной точке, многоточечная калибровка (6 стандартов)
   Измерение против бланка по дистиллированной воде или воздуху.
2. Настройте прибор на ноль по дистиллированной воде или воздуху.
3. Пипетируйте в кюветы:

	Полумикрометод		Микрометод	
	АСТ	АЛТ	АСТ	АЛТ
R1a Субстрат АСТ (реагент 1a)	0,5 мл	--	50 мкл	--
R1b Субстрат АЛТ (реагент 1b)	--	0,5 мл	--	50 мкл

4. Инкубировать 5 мин при 37°C, добавить.

Проба	100 мкл	100 мкл	10 мкл	10 мкл
5. Перемешать, оставить при 37°C	30 мин	30 мин	30 мин	30 мин
Реагент 2 (DNHP)	0,5 мл	0,5 мл	50 мкл	50 мкл

6. Перемешать, инкубировать 20 мин при комнатной t°C

NaOH 4N	5.0 мл	5.0 мл	0,5 мл	0,5 мл

7. Перемешать, инкубировать 5 мин при комнатной t°C.
8. Измерить оптическую плотность при 505 нм против бланка по воде. Окраска стабильна 60 мин.

РАСЧЕТ

Определите концентрацию АСТ и АЛТ, сопоставив абсорбцию с соответствующей калибровочной кривой.

Калибровка (мл)

Установить шесть пробирок и отдозировать в них:

	1	2	3	4	4	6
Вода	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Субстрат АСТ (R1a)	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5
Стандарт пирувата	--	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
Реагент 2 (DNHP)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

Перемешать, инкубировать 20 мин при комнатной t°C.

NaOH 0,4N	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0

Перемешать, инкубировать 15 мин при комнатной t°C.

Измерить оптическую плотность при 505 нм против бланка по воде.

Построить калибровочную кривую зависимости абсорбции от концентрации.

Концентрации:

АСТ	WU/мл	0	22	55	95	150	215
	Е/л	0	11	27	46	72	104
АЛТ	WU/мл	0	25	50	83	126	--
	Е/л	0	12	24	40	62	--

ЕДИНИЦЫ

- 1 единица Вроблевски (WU) для АСТ и АЛТ обозначает количество фермента, необходимое для образования $4{,}82 \times 10^{-4}$ мкмоль глютамата/мин (25°C).
- Коэффициенты пересчета: 1 WU/мл = 1 Е/л x 2,07 1 Е/л = 1 WU/мл x 0,483
  Коэффициенты пересчета международных единиц (Е/л) в единицы СИ (кат/л):
  1 Е/л = 16.67 нкат/л 1 мккат/л = 60 Е/л.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуется использовать контрольную сыворотку с каждой серией тестов. Мы рекомендуем контрольные сыворотки SPINTROL Normal и Pathological (Кат.№ 1002120 и 1002210). Если значения контролей выходят за указанный диапазон, проверьте прибор, реагенты и технику выполнения. Каждая лаборатория должна разработать собственную систему контроля качества и соответствующие действия, если контроли не показывают приемлемых результатов.

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

АСТ (GOT)	8–40 WU/мл	3,85 – 19,3 Е/л
АЛТ (GPT)	5–30 WU/мл	2,4 – 14,5 Е/л

Эти значения приведены для ориентационных целей; каждая лаборатория должна представить свои собственные значения референтного диапазона.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

Диапазон измерения: предел линейности для АСТ (GOT) – 87 Е/л (180 WU/мл) и для АЛТ (GPT) – 61 Е/л (126 WU/мл).

Если полученные результаты превышают предел линейности, пробы следует разбавить 1:10 физраствором (9 г/л NaCl) и повторить исследование, полученный результат умножить на 10.

Правильность: Результаты, полученные с помощью реагентов SPINREACT (y), не показали систематических различий при сравнении с другими коммерческими реагентами (x).

Результаты оценки характеристик теста зависят от используемого анализатора.

ИНТЕРФЕРЕНЦИИ

Гемолиз оказывает влияние на тест[1,2]. Список лекарств и других веществ, влияющих на определение АСТ и АЛТ, представлен Young et.al[3,4].

ПРИМЕЧАНИЕ

Процедуры для некоторых автоматических анализаторов доступны по запросу.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Murray R. Aspartate aminotransferase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1112-116.
2. Reitman S, Frankel S.J. Clin Path 1957; 28-56.
3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
5. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
6. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.