АЛТ (ALT (GPT)) 1001170, 1001171, 1001172

Аланинаминотрансфераза АЛТ (К.Ф. 2.6.1.1). УФ-кинетический метод измерения в ультрафиолете по рекомендации МФКХ (IFCC).

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

Код: 1001170 20x2 мл Код: 1001171 10x15 мл Код: 1001172 10x50 мл

ПРИНЦИП МЕТОДА

Аланинаминотрансфераза (АЛТ–ALT) или глутаматпируваттрансаминаза (ГПТ–GPT) катализирует обратимый перенос аминогруппы от аланина к α-кетоглютарату с образованием глютамата и пирувата. Образующийся пируват редуцируется в лактат лактатдегидрогеназой и NADH.

$$\text{L-аланин} + \alpha\text{-кетоглютарат} \xleftrightarrow{\text{АЛТ}} \text{L-глютамат} + \text{пируват}$$

$$\text{Пируват} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xleftrightarrow{\text{ЛДГ}} \text{лактат} + \text{NAD}^+$$

Скорость снижения концентрации NADH, измеряемая фотометрически при 340 нм, прямо пропорциональна каталитической активности (концентрации) АЛТ, присутствующей в пробе[1].

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Аланинаминотрансфераза – это клеточный фермент, представленный в высокой концентрации в печени и почках. Повышенные уровни наблюдаются при заболеваниях печени, таких как гепатиты, болезнях скелетной мускулатуры и травмах, но наибольшее применение тест получил в диагностике заболеваний печени. При использовании совместно с АСТ помогает в диагностике инфаркта миокарда, при этом значения АЛТ остаются в нормальных пределах, а уровни АСТ повышены[1,4,5].

Клинический диагноз не может быть поставлен по результату одного теста, он должен определяться по совокупности клинических и других лабораторных данных.

РЕАГЕНТЫ

Реагент 1 R1 Буфер	ТРИС-буфер (pH 7,8) L-аланин	100 ммоль/л 500 ммоль/л
Реагент 2 R2 Субстрат	NADH Лактатдегидрогеназа (ЛДГ-LDH) α-кетоглютарат	0,18 ммоль/л 1200 Е/л 15 ммоль/л

ПОДГОТОВКА

Рабочий реагент (R1+R2):

Код 1001170 - Развести одну таблетку в одном флаконе буфера **Реагент 1.**

Код 1001171 - Развести одну таблетку в 15 мл флаконе буфера **Реагент 1.**

Код 1001172 - Развести одну таблетку в одном флаконе (50мл) буфера **Реагент 1.**

Закрыть крышкой и тщательно перемешать до полного растворения содержимого.

Разведенный реагент стабилен 72 часа при комнатной температуре (18-20°C) и 21 дней при 2-8°C.

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 таблетки субстрата, если они разрушены. Не используйте реагенты после окончания срока годности.

Признаки порчи реагентов:

- присутствие частиц или мутности.
- абсорбция бланка (A) при 340 нм <1,000.

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

- Спектрофотометр и колориметр с фильтром 340 нм и термостатом с температурой 25, 30 или 37°C (± 0,1°C) (или биохимический анализатор).
- Соответствующие кюветы с оптическим путем 1,0 см.
- Общее лабораторное оборудование.

ПРОБЫ

Сыворотка или плазма[1]. АЛТ стабильна в сыворотке при 2-8°C минимум 7 дней.

ПРОЦЕДУРА

1. Условия теста:
   Длина волны : 340 нм
   Оптический путь : 1 см
   Температура : 25, 30 или 37°C (Температура должна быть стабильной (±0,5°C))
   Измерение : против бланка по дистиллированной воде или воздуху.
   Метод : кинетика по фактору (-1750), время задержки 60 с, время реакции 180 с.
2. Настройте прибор на ноль по дистиллированной воде или воздуху.
3. Подогреть рабочий реагент и кюветы до нужной температуры (25/30/37°C). Пипетируйте в кювету непосредственно перед измерением:

	Полумикрометод	Микрометод	ChemWell
Проба	100 мкл	50 мкл	20 мкл
Рабочий реагент (R1+2)	1 мл	500 мкл	200 мкл

4. Перемешать, инкубировать в течение 1 мин.
5. Измерить начальную оптическую плотность (A), затем измерять оптическую плотность каждую минуту в течение 3-х мин.
6. Вычислить среднее изменение оптической плотности за минуту: ΔA/мин.

ВЫЧИСЛЕНИЕ

Рассчитать активность АЛТ в пробе, умножая ΔA/мин на следующие величины (факторы):

(Е/л)= ΔA/мин **x –1750**

Единицы: 1 международная единица (Е/л или U/L) – это количество фермента, которое трансформирует 1 мкмоль субстрата в минуту при стандартных условиях. Концентрация выражается в единицах на литр пробы (Е/л).

Фактор для перевода международных единиц (Е/л) в единицы СИ (кат/л):

1 Е/л = 16.67×10^{-9} кат/л = 16.67×10^{-3} мккат/л; 1 мккат/л = 60 Е/л

Коэффициенты температурной конверсии

Для коррекции результатов относительно другой температуры умножьте на:

Температура исследования	Коэффициенты конверсии для		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1.00	1.32	1.82
30°C	0.76	1.00	1.39
37°C	0.55	0.72	1.00

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

Температура исследования		25°C	30°C	37°C
Мужчины,	до	22 Е/л	29 Е/л	**40 Е/л**
Женщины,	до	18 Е/л	22 Е/л	**32 Е/л**

У здоровых новорожденных исследования показывают референсный диапазон в два раза выше, чем у взрослых, вследствие свойств гепатоцитов новорожденных. Эти значения снижаются до уровня взрослых примерно к 3-х месячному возрасту. Эти значения приведены для ориентационных целей; каждая лаборатория должна представить свои собственные значения референтного диапазона.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

Диапазон измерения: от определяемого уровня в 1,2 Е/л до предела линейности 262 Е/л.

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

Воспроизводимость:

	Внутри серии (n=20)	
Среднее (U/L)	34,9	118,4
SD	0,64	1,17
CV (%)	1,84	0,99

Между сериями (n=20)	
34,1	118,3
1,03	1,53
3,04	1,29

Чувствительность: 1 Е/л = 0.000557 ΔA/мин.

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

Результаты, полученные при обследовании 50 проб, были следующие:

Коэффициент корреляции (r): 0,99. Уравнение регрессии. y=0.98x + 0.38.

Результаты оценки характеристик теста зависят от используемого анализатора.

ИНТЕРФЕРЕНЦИИ

Обычно используемые антикоагулянты, такие как гепарин, фториды, оксалаты и ЭДТА не влияют на результаты. Гемолиз оказывает влияние на тест[1]. Список лекарств и других веществ, влияющих на определение АЛТ, представлен Young et.al[2,3].

ПРИМЕЧАНИЕ

Процедуры для некоторых автоматических анализаторов доступны по запросу.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Murray R. Alanine aminotransferase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1088-1090.
2. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
3. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
4. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
5. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.