



## УВАГА! ЗМІНЕНО ЧАС ІНКУБАЦІЇ

СР	9094/2009
	07.11.2014

Погоджено  
Перший заступник  
Голови Державної Служби України  
з лікарських засобів  
О. А. Алексєєва  
07 листопада 2014 р.

### Інструкція з використання набору реагентів для визначення концентрації аланінамінотрансферази в сироватці, плазмі крові АЛТ «СпЛ»

#### IN VITRO

P1	1 x 50 мл
P2	1 x 50 мл
P3	1 x 30 мл
Калібратор	1 x 4 мл

Зберігати при 2-8°C

Набір розрахований на 200 визначень з урахуванням холостих та калібрувальних проб при витраті робочого розчину відповідно цієї методики.

#### Принцип методу

В основі визначення активності АЛТ з динітрофенілгідрозином лежить метод Райтмана-Френкеля. Аланінамінотрансфераза у присутності  $\alpha$ -кетоглутарата каталізує реакцію переамінування L – аланіну з утворенням пірувату.

$L\text{-аланін} + \alpha\text{-кетоглутарат} \xrightarrow{\text{АЛТ}} \text{глутамат} + \text{піруват}$

Піруват з 2,4-динітрофенілгідрозином в лужному середовищі утворює динітрофенілгідрозон, інтенсивність кольору пропорційна концентрації АЛТ в зразку.

#### Клінічне значення

АЛТ - фермент, що бере участь у метаболізмі амінокислот в клітині. Найбільший вміст у печінки, нирках, підшлунковій залозі, серцевому м'язі, скелетних м'язах. У клітині фермент локалізується в цитоплазмі, тому будь-яке пошкодження клітин призводить до збільшення його вмісту (активності) в крові. Органічні ураження при гострих або хронічних захворюваннях, що супроводжуються некрозом клітин будь-якої етіології, призводять до виходу АЛТ з області ураження в кров'яне русло, що призводить до підвищення їх активності в крові. Збільшення активності АЛТ у сироватці крові найбільш характерно при різних захворюваннях печінки, що супроводжуються некрозами (гепатити, токсичний вплив). АЛТ є показником оцінки тяжкості перебігу вірусних гепатитів В і С. Одночасне визначення активності двох амінотрансфераз (АЛТ і АСТ) є цінним діагностичним тестом.

Активність АЛТ зростає при інфаркті міокарда, але в меншій мірі, ніж активність АСТ (аспартатамінотрансфераза). Для уточнення діагнозу проводять розрахунок коефіцієнта де Рітиса: співвідношення активностей АСТ/АЛТ. У нормі це становить  $1.33 \pm 0.42$ . Різке перевищення цього показника свідчить про враження серцевого м'яза. Також у якості біомаркеру в діагностиці інфаркту міокарда рекомендується використовувати визначення активності креатинфосфокінази МВ-типу (КФК-МВ).

Зниження коефіцієнта до 0.6 - 0.8 характерно при некрозі печінкових клітин при вірусних гепатитах.

E-mail: [spainlab@spainlab.com.ua](mailto:spainlab@spainlab.com.ua)

Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561 (для стаціонарних телефонів)



Клінічний діагноз не повинен базуватися на одному показникові, необхідно враховувати клінічні та інші лабораторні дані.

### Склад набору

- Реагент 1.** Субстрат: DL-Аланін - 200 ммоль/л;  $\alpha$ - кетоглютарат - 2 ммоль/л.
- Реагент 2.** Проявник: 2,4-динітрофенілгідразин (ДНФГ) - 1 ммоль/л.
- Реагент 3.** Натрію гідроксид 0.4 N концентрат 20x.
- Калібратор.** Розчин пірувату - 2.0 ммоль/л.
- Інструкція з використання.
- Паспорт.

### Аналітичні характеристики

- Лінійність вимірювального діапазону: 0.028 - 1.01 мккат/л.  
Відхилення від лінійності не перевищує 6%. Якщо отримані результати були більше, ніж межі лінійності розведіть зразки NaCl 9 г/л та помножте результат на фактор розведення.
- Чутливість не менш 0.028 мккат/л .
- Коефіцієнт варіації результатів визначень - не більш 6%.

### Матеріал для дослідження

Сироватка або плазма крові. Досліджувані сироватки або плазми повинні бути ретельно відокремлені від формених елементів крові не пізніше, ніж через 1 годину після взяття крові. Уникайте використання мутних, ліпідних та гемолітичних зразків.

### Перелік необхідного устаткування

- Спектрофотометричне або колориметричне обладнання з довжиною хвилі 505 нм.
- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 1 см.
- Термостатична водяна баня 37 °С.
- Загальне лабораторне обладнання.

**Прим:** Адаптації до напівавтоматичних і автоматичних приладів надаються за запитом

### Підготовка реагентів

Перед використанням набір витримати при кімнатній температурі протягом 30 хвилин.

**P1, P2** готові до використання.

**P3** розвести дистильованою водою 1:19 (у 20 разів)

### Проведення аналізу

- Умови вимірювання:  
довжина хвилі 505 (500-600) нм  
кювета з товщиною оптичною шару 1 см  
температура 15-25-37°C
- Налаштувати прилад на нуль відносно дистильованої води.
- Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрати та вносити в об'ємах, вказаних в таблиці.

Відмірити, мл	Дослідна проба	Контрольна (холоста) проба
P1, мл	0.25	0.25
Змішати, інкубувати 5 хв. при 37°C на водяній бані		
Сироватка крові, мл	0.05	-
Фіз. розчин, мл		0.05
Змішати та інкубувати 60 хв. при 37°C. на водяній бані		
P2, мл	0.25	0.25
Змішати та інкубувати 20 хв. при кімнатній температурі		
P3, мл	2.5	2.5
Змішати та інкубувати 5 хв. при кімнатній температурі		

- Виміряти оптичну щільність дослідної проби (E1) проти контрольної (холостої) проби. Забарвлення стійке як мінімум 30 хв.

**Прим.** Об'єми реагенту та зразку можуть бути пропорційно змінені відповідно до робочого

E-mail: [spainlab@spainlab.com.ua](mailto:spainlab@spainlab.com.ua)

Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561 (для стаціонарних телефонів)



об'єму кювети використовуваного аналізатора.

### Розрахунок результатів

Розрахунок активності АЛТ в сироватці крові проведіть по калібрувальній кривій.

Компоненти для реакційної суміші для побудови графіку відберіть в кількостях, вказаних в таблиці:

№/п	Калібратор	Вода дист.	P1	P2	Активність АЛТ	
					Од/л	мккат/л
		мл				
1	-	0.1	0.5	0.5	-	-
2	0.05	0.1	0.45	0.5	17	0.28
3	0.1	0.1	0.4	0.5	34	0.556
4	0.15	0.1	0.35	0.5	50	0.833
5	0.2	0.1	0.3	0.5	67	1.111
6	0.25	0.1	0.25	0.5	83	1.39

Після додавання P2 проби щільно перемішати, витримати при кімнатній температурі 20 хв.

Додати во всі пробірки P3 по 5 мл, витримати 5-10 хв.

Виміряти оптичну щільність проб № 2-6 проти холостої проби №1.

Забарвлення стабільне 30 хв.

Побудуйте калібрувальну криву, визначити концентрацію АЛТ в дослідних зразках.

### Референтні величини

Ґрунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Нормальні рівні АЛТ в сироватці крові становить:

0.028-0.19 мккат/л (0.1-0.68 мкмоль/ч\*мл) при температурі 37°C.

Перехід в додаткові одиниці: Од/л x 0.01667 = мккат/л.

мккат/л x 3.6 = мкмоль/ч\*мл

### Контроль якості

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи наступний контрольний матеріал: контрольні сироватки «КОНТРОЛЬ НОРМА Biog», «КОНТРОЛЬ ПАТОЛОГІЯ Biog» (Spinreact, S.A. Іспанія), контрольні сироватки «Lyonorm HUM N, P» (Чехія), «Cormay Serum HN, HP» (Польща), «ФИЛО-НОРМ, ФИЛО-ПАТ» (Україна). Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте апаратуру, реактиви та можливі технічні проблеми. Кожна лабораторія повинна встановити свої власні схеми контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

### Зберігання та стабільність

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, при зберіганні їх щільно закритими при 2-8°C, в захищеному від світла місці і уникаючи забруднення під час їх використання.

Не використовуйте реактиви після закінчення терміну придатності (1 рік).



СР	9094/2009
	07.11.2014

ТОВ «СпайнЛаб»,  
61050, м. Харків  
вул. Франківська, 14  
тел. (057) 768-07-14

**Паспорт**  
**Набір реагентів для визначення концентрації**  
**аланінамінотрансферази в сироватці, плазмі крові**  
**АЛТ «СПЛ»**  
**IN VITRO**

Серія **23-504-1**

Дата виготовлення **27.05.2015**

Термін придатності **27.05.2016**

Зберігати при 2-8°C

№ /п	Показник	Вимоги ТУ У 24.4-36035842-001:2009	Результати контролю
<b>Фізико-хімічні показники</b>			
<b>1. Зовнішній вигляд реагентів</b>			
1.1	P1. Субстрат: DL-Аланін - 200 ммоль/л; α- кетоглютарат рН 7.4 2 ммоль/л	рідкий прозорий розчин	відповідає
1.2	P2. Проявник: 2,4-динітрофенілгидразин (ДНФГ) - 1 ммоль/л.	світло-жовтий прозорий розчин	відповідає
1.3	P3. Натрію гідроксид 0.4 N концентрат 20x	рідкий прозорий розчин, сл. мутний	відповідає
1.4	Калібратор. Розчин піривату - 2.0 ммоль/л	рідкий прозорий розчин	відповідає
<b>2. рН реагентів</b>			
2.1	P1	7.4 ± 0.2	відповідає
<b>3. Показники правильності визначення</b>			
3.1	Чутливість не менш, мккат/л	0.028	відповідає
3.2	Лінійність в діапазоні концентрацій, мккат/л	0.028-0.7 ± 6 %	відповідає
3.3	Коефіцієнт варіації	± 6 %	відповідає
<b>4. Комплектація</b>			
4.1	P1	1 фл. х 50 мл	відповідає
4.2	P2	1 фл. х 50 мл	відповідає
4.3	P3	1 фл. х 30 мл	відповідає
4.3	Калібратор	1 фл. х 4 мл	відповідає

Набір розрахований на 200 визначень з урахуванням холостих та калібрувальних проб при витраті робочого розчину відповідно цієї методики.

Термін зберігання – 1 рік з дня виготовлення.

**Висновок ВТК:** Набір протестован на контрольному матеріалі згідно системи контролю якості ТОВ СПАЙНЛАБ.

Відповідає ТУ У 24.4-36035842-001:2009.