

DAC-SpectroMed s.r.l.

MD-2012, Moldova, г. Кишинев, ул. Армянская, 47, кв. 64
Тел.: +37322/574900, 574922/23; факс: +37322/574920
Email: office@dacspectromed.com
www.dacspectromed.com

PT MD 11-38623324-002:2002

ALT-UV-DAC.Lq

АЛАНИНАМИНОТРАНСФЕРАЗА (ALT, GPT) КИНЕТИЧЕСКИЙ УФ МЕТОД

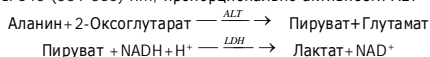
Только для диагностики «in vitro»
Хранить при 2-8°C

Код 2010A150 150 мл
Код 2010A600 600 мл

ПРИНЦИП МЕТОДА

Аланинаминотрансфераза (ALT или GPT) катализирует перенос аминогрупп от аланина к 2-оксоглутарату посредством реакций, описанных ниже.

Уменьшение интенсивности окраски NADH, измеренной при длине волны 340 (334-365) nm, пропорционально активности ALT^{1,2,3}.



СОСТАВ НАБОРА

Reagent A	pH 7,5
Трис	110 mmol/l
L-аланин	600 mmol/l
Лактат дегидрогеназа	> 1500 U/l
Азид натрия	1,0 g/l
Reagent B	
NADH	240 μmol/l
2-оксоглутарат	16 mmol/l
Азид натрия	1,0 g/l

Важно! Не допускать попадания на кожу и слизистые.

ХРАНИЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

Реагенты стабильны при 2-8°C до срока, указанного на этикетке.

Рабочий реагент стабилен 2 недели при 2-8°C.

Признаки непригодности реагентов: абсорбция **Рабочего реагента** ниже 1,100 при 334 nm (кюветы на 1 cm).

ОБРАЗЦЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сыворотка, свободная от гемолиза.

ALT в сыворотке при 2-8°C стабильна 7 дней.

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

ALT/GPT < 40 U/l⁴.

Данные величины ориентировочны, рекомендуется определение собственных референтных значений в каждой лаборатории.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для контроля хода реакции и процедуры измерения рекомендуется использовать нормальные и патологические контрольные сыворотки. Каждая лаборатория должна установить собственную внутреннюю систему контроля качества.

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

Анализатор, спектрофотометр или термостатирующий фотометр на 37°C с фильтром 340 (334-365) nm.

Дозатор от 100 μl до 1,0 ml. Кюветы 1,0 cm.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор предназначен только для диагностики in vitro.

Образцы крови пациентов должны рассматриваться как потенциально опасные и обрабатываться как инфекционные. При использовании набора следует соблюдать правила безопасности при работе с сдкими и ядовитыми веществами.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧИХ РЕАГЕНТОВ

Готовить из расчета:

2 ml Reagent A + 1 ml Reagent B.

Осторожно смешать.

ПРОЦЕДУРА ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Метод: кинетический (понижающий)
Длина волны: 340 (334-365) nm
Температура: 37°C
Бланк: по дистиллированной воде

Метод А

1. Доведите температуру **Рабочего реагента** и фотометра до температуры реакции (37°C).

2. Внесите в кювету с длиной оптического пути 1 cm*:

Рабочий реагент 1,0 ml
Образец, Стандарт 100 μl

3. Смешайте и поместите кювету в фотометр. Включите секундомер.

4. Спустя 2 минуты измерьте начальную абсорбцию против дистиллированной воды, затем измеряйте абсорбцию через каждую 1 минуту в течение 2 минут.

5. Вычислите разницу между последовательными абсорбциями и среднюю разницу абсорбции за 1 минуту (ΔA/min).

Метод В

1. Доведите температуру Reagent A, Reagent B и фотометра до температуры реакции (37°C).

2. Внесите в кювету с длиной оптического пути 1 cm*:

Reagent A 1,0 ml
Образец, Стандарт 150 μl

3. Смешайте и внесите в кювету:

Reagent B 500 μl

4. Смешайте и поместите кювету в фотометр. Включите секундомер.

5. Спустя 2 минуты измерьте начальную абсорбцию против дистиллированной воды, затем измеряйте абсорбцию через каждую 1 минуту в течение 2 минут.

6. Вычислите разницу между последовательными абсорбциями и среднюю разницу абсорбции за 1 минуту (ΔA/min).

*NB: Объемы реагента и образца можно пропорционально изменить в соответствии с рабочим объемом кюветы анализатора.

ВЫЧИСЛЕНИЯ

Содержание ALT/GPT в образце определить по формуле:

$$\frac{\Delta A / \text{min}_{\text{об}}}{\Delta A / \text{min}_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}} = C_{\text{об}}$$

Вычисление по фактору:

340 nm: **Активность** (U/l) = ΔA/min_{об} × 2200

334 nm: **Активность** (U/l) = ΔA/min_{об} × 1950

МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Предел чувствительности: 0,001 ΔA/min=1,95 U/l.

Предел линейности: 0,230 ΔA/min=450 U/l.

Воспроизводимость в пределах периода:

Средняя концентрация	CV*	n*
14,5 U/l	1,09 %	20
318 U/l	0,95 %	20

Воспроизводимость от периода к периоду:

Средняя концентрация	CV*	n*
34,2 U/l	2,35 %	25
136 U/l	0,59 %	25

CV-коэффициент вариации; n-количество определений.

Интерференция: Гемоглобин до 1,6 μmol/l (0,10 g/l), билирубин до 257 μmol/l (0,15 g/dl), липиды до 3 g/l, глюкоза до 55,5 mmol/l (10 g/l) и аскорбиновая кислота до 2,84 mmol/l (0,5 g/l) не влияют на результат. Гемолиз влияет на результат. Другие лекарственные препараты могут влиять на результат.

Данные метрологические характеристики были получены на анализаторе. Результаты могут варьировать в зависимости от используемого оборудования или процедуры определения.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аминотрансферазы катализируют образование глутаминовой кислоты из 2-оксиглутарата путем переноса аминогрупп. В норме наибольшие концентрации ALT присутствуют в печени и почках. Сывороточная концентрация ALT повышается при гепатите и заболеваниях печени, сопровождающихся некрозом гепатоцитов: инфекционном мононуклеозе, холестазах, циррозе, карциноме печени, белой горячке и при назначении различных лекарственных средств, таких как опиаты, салицилаты или ампицилин^{5,6}.

DAC-SpectroMed s.r.l.

MD-2012, Moldova, or. Chishină, str. Armenească 47, ap. 64
Tel.: +37322/574900, 574922/23; fax: +37322/574920
Email: office@dacspectromed.com
www.dacspectromed.com

PT MD 11-38623324-002:2002

ALT-UV-DAC.Lq

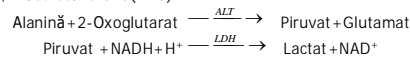
ALANINAMINOTRANSFERAZE (ALT, GPT) METODA CINETICĂ UV

Numai pentru diagnosticare «in vitro»
A se păstra la 2-8°C

Cod 2010A150 150 ml
Cod 2010A600 600 ml

PRINCIPIUL METODEI

Alaninaminotransferaza (ALT sau GPT) catalizează transferul aminogrupelor de la alanină către 2-oxoglutarat conform reacțiilor descrise mai jos. Activitatea ALT^{1,2,3} este proporțională diminuării NADH, măsurată la 340(±10) nm.



COMPONENTA SETULUI

Reagent A	pH 7,5
Tris	110 mmol/l
L-alanină	600 mmol/l
Lactat de dehidrogenază	> 1500 U/l
Azid de sodiu	1,0 g/l
Reagent B	
NADH	240 μmol/l
2-oxoglutarat	16 mmol/l
Azid de sodiu	1,0 g/l

Toxic! A se evita contactul cu pielea și suprafețele mucoase.

PĂSTRAREA ȘI STABILITATEA REAGENȚILOR

Reagenții sunt stabili la 2-8°C până la data indicată pe etichetă.

Reagențul de lucru este stabil la 2-8°C două săptămâni.

Semne de deteriorare: absorbția Reagențului de lucru sub 1,100 la 334 nm (cuva 1 cm).

PROBE

Ser. Nu se va utiliza ser hemolizat.

ALT in ser este stabilă la 2-8°C 7 zile.

VALORI DE REFERINȚĂ

ALT/GPT < 40 U/l⁴. Aceste valori sunt orientative. Se recomandă stabilirea diapazonului de referință în laboratorul dat

CONTROLUL CALITĂȚII

Pentru controlul mersului reacției și a procedurii de măsurare se recomandă de folosit seruri normale și patologice pentru control. Se recomandă stabilirea sistemului intern de control în laboratorul dat.

ECHIPAMENT ADIȚIONAL

Analizor, спектрофотометру sau фотометру cu терmostat 37°C cu filtrul 340 (334-365) nm.

Dozatoare de la 100 μl pină la 1,0 ml. Cuve 1,0 cm.

PRECAUȚII

Setul este destinat numai pentru diagnosticare in vitro

Probele pacienților vor fi considerate ca material potențial contagios și se vor prelucra analogic celor contagioase
La utilizarea setului se vor respecta regulile de securitate prevăzute pentru lucrul cu substanțe toxice.

PREPARAREA REAGENȚILOR DE LUCRU

Se va prepara din calcul:

2 ml Reagent A + 1 ml Reagent B.

Se va amesteca atent.

METODA DE LUCRU

Metoda: cinetic (reducerea)
Lungimea de undă: 340 (334-365) nm
Temperatura: 37°C
Instalarea zero: după apă distilată

Metoda A

1. Reagențul de lucru și фотометру se vor încălzi pină la temperatura reacției (37°C).

2. Se va pipeta în cuva cu lungimea drumului optic 1 cm:

Reagent de lucru 1,0 ml
Proba, Standard 100 μl

3. Se va amesteca, cuva se va inserta în фотометру. Se va declanșa cronometrul.

4. Peste 2 minute se va măsura absorbția inițială contra apei distilate, apoi se va măsura absorbția în intervale de 1 minut pe parcursul a 2 minute.

5. Se va calcula diferența dintre absorbțiile consecutive și diferența medie a absorbției pe minut (ΔA/min).

Metoda B

1. Reagențul A, Reagențul B și фотометру se vor încălzi pină la temperatura reacției (37°C).

2. Se va pipeta în cuva cu lungimea drumului optic 1 cm:

Reagent A 1,0 ml
Proba, Standard 150 μl

3. Se va amesteca și se va pipeta în cuvă:

Reagent B 500 μl

4. Se va amesteca, cuva se va inserta în фотометру. Se va declanșa cronometrul.

5. Peste 2 minute se va măsura absorbția inițială contra apei distilate, apoi se va măsura absorbția în intervale de 1 minut pe parcursul a 2 minute

6. Se va calcula diferența dintre absorbțiile consecutive și diferența medie a absorbției pe minut (ΔA/min).

NB: Volumul reagentului și probei pot fi schimbate proporțional conform volumului de lucru a cuvei analizatorului folosit

CALCULE

Conținutul ALT în probă (U/l) se va calcula utilizând formula:

$$\frac{\Delta A / \text{min}_{\text{Pr}}}{\Delta A / \text{min}_{\text{St}}} \times C_{\text{St}} = C_{\text{Pr}}$$

Calcul după factor:

340 nm: Activitatea (U/l) = ΔA/min_{Pr} × 2200

334 nm: Activitatea (U/l) = ΔA/min_{Pr} × 1950

CARACTERISTICI METROLOGICE

Limita sensibilității: 0,001 ΔA/min=1,95 U/l.

Limita linearității: 0,230 ΔA/min=450 U/l.

Reproductibilitatea în limitele perioadei:

Concentrația medie	CV*	n*
14,5 U/l	1,09 %	20
318 U/l	0,95 %	20

Reproductibilitatea de la perioada la perioada:

Concentrația medie	CV*	n*
34,2 U/l	2,35 %	25
136 U/l	0,59 %	25

* CV-coeficient de variație; n-numărul de determinări.

Interferențe: Hemoglobina pină la 1,6 μmol/l (0,10 g/l), bilirubina pină la 257 μmol/l (0,15 g/dl), lipide pină la 3 g/l, glucoza pină la 55,5 mmol/l (10 g/l) și acid ascorbic pină la 2,84 mmol/l (0,5 g/l) nu influențează rezultatul. Hemoliza influențează rezultatul.

Se va ține cont de posibila interferență medicamentoasă, cit și de interferența altor substanțe. Aceste caracteristici metrologice au fost obținute la utilizarea analizorului. Rezultatele pot varia în dependență de echipamentul utilizat sau procedura de determinare.

CARACTERISTICI DIAGNOSTICE

Aminotransferaza catalizează formarea acidului glutamic din 2-oxoglutarat datorită transferului aminogrupelor. ALT, în limitele valorilor normale, este prezentă în multe țesuturi iar concentrația mai sporită se determină în ficat și rinichi. Concentrația ALT in ser se mărește în cazul hepatitei și altor boli ale ficatului însoțite de necroza hepatocitelor: mononucleoză infecțioasă, colestazech, cirroza carcinomă metastatică a ficatului, delir alcoolic cit și la administrarea preparatelor hepatotoxice: opiacee, salicilați și ampicilină^{5,6}.

DAC-SPECTROMED SRL

47, Armeneasca, str., apt. 64, Chisinau MD-2012 Moldova
Tel.: /+37322/ 574900,574922/23; fax: /+37322/ 574920

Email: office@dacspectromed.com
www.dacspectromed.com

PT MD 11-38623324-002:2002

ALT-UV-DAC.Lq

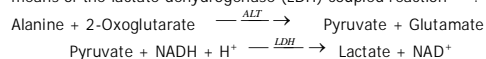
ALANINE AMINOTRANSFERASE (ALT/GPT)
UV-KINETIC

For «in vitro» diagnostic use only
Store at 2-8°C

Cod 2010A150 150 ml
Cod 2010A600 600 ml

PRINCIPLE

Alanine aminotransferase (ALT or GPT) catalyzes the transfer of the amino group from alanine to 2-oxoglutarate, forming pyruvate and glutamate. The catalytic concentration is determined from the rate of decrease of NADH color, measured at 340(334-365) nm, by means of the lactate dehydrogenase (LDH) coupled reaction^{1,2,3}.



CONTENTS AND COMPOSITION

Reagent A	pH 7,5
Tris	110 mmol/l
L-alanine	600 mmol/l
Lactate dehydrogenase	> 1500 U/l
Sodium azide	1,0 g/l
Reagent B	
NADH	240 µmol/l
2-oxoglutarate	16 mmol/l
Sodium azide	1,0 g/l

Harmful! Harmful if swallowed.

STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

Reagents at 2-8°C are stable until the expiry date shown on the label. After opening reagents are stable for 30 days.

Working Reagent is stable for 2 weeks at 2-8°C.

Indications of deterioration: Absorbance of the Working Reagent lowers than 1,100 at 334 nm (1 cm cuvette).

SAMPLES

Serum free of Hemolysis.

ALT in serum is stable for 7 days at 2-8°C.

REFERENCE VALUES

ALT/GPT < 40 U/l⁴. These ranges are given for orientation only; each laboratory should establish its own reference ranges.

QUALITY CONTROL

It is recommended to use the Sera N and Sera P to verify the performance of the measurement procedure.

Each laboratory should establish its own internal Quality Control scheme and procedures for corrective action if controls do not recover within the acceptable tolerances.

ADDITIONAL EQUIPMENT

Analyzer, spectrophotometer or photometer with cell holder thermostatable at 37°C and able to read at 340 (334-365) nm.

Cuvettes with 1 cm light path. Stopwatch.

Pipettes for 100 µl, 150 µl, 500 µl and 1,0 ml.

PRECAUTION

For in vitro diagnostics only.

Handle all patients' samples as potentially dangerous and treat as infectious. Precautions established for work with caustic and toxic substances should be observed while using the reagents.

REAGENT PREPARATION

Working Reagent:

2 ml Reagent A + 1 ml Reagent B. Mix gently.

PROCEDURE

Assay conditions

Wavelength: 340 (334-365) nm
Temperature: 37°C
Cuvette: 1 cm light path
Read against: distilled water
Method: kinetic UV (decreasing)

Procedure A

1. Bring the Working Reagent and the photometer to reaction temperature (37°C).
2. Pipette into a cuvette 1 cm light path:
Working Reagent 1,0 ml
Sample or Standard 100 µl
3. Mix and insert the cuvette into the photometer. Start the stopwatch.
4. After 2 minute record initial absorbance against the distilled water and record absorbance at 1 minute intervals thereafter for 2 minutes.
5. Calculate the difference between consecutive absorbances, and the average absorbance difference per minute ($\Delta A/\text{min}$).

Procedure B

1. Bring Reagent A, Reagent B and photometer to reaction temperature (37°C).
2. Pipette into a cuvette 1 cm light path:
Reagent A 1,0 ml
Sample or Standard 150 µl
3. Mix and pipette into a cuvette:
Reagent B 500 µl
4. Mix and insert the cuvette into the photometer. Start the stopwatch.
5. After 2 minute, record initial absorbance against the distilled water and record absorbance at 1 minute intervals thereafter for 2 minutes.
6. Calculate the difference between consecutive absorbances, and the average absorbance difference per minute ($\Delta A/\text{min}$).

CALCULATIONS

The ALT/GPT concentration in the sample is calculated using the following general formula:

$$\frac{\Delta A/\text{min}_{\text{Sam}}}{\Delta A/\text{min}_{\text{St}}} \times C_{\text{St}} = C_{\text{Sam}}$$

Calculation using factor
340 nm: Activity (U/l) = $\Delta A/\text{min}_{\text{Sam}} \times 2200$
334 nm: Activity (U/l) = $\Delta A/\text{min}_{\text{Sam}} \times 1950$

METROLOGICAL CHARACTERISTICS

Detection limit: 0,001 $\Delta A/\text{min}$ = 1,95 U/l.
Linearity limit: 0,230 $\Delta A/\text{min}$ = 450 U/l.

Repeatability (within run):

Mean Concentration	CV	n
14,5 U/l	1,09 %	20
318 U/l	0,95 %	20

Reproducibility (run to run):

Mean Concentration	CV	n
34,2 U/l	2,35 %	25
136 U/l	0,59 %	25

CV - coefficient of variation n - number of determinations

Interferences: Hemoglobin 1,6 µmol/l (10 g/l), bilirubin 257 µmol/l (0,15 g/l), lipid 3 g/l, glucose 55,5 mmol/l (10 g/l) and ascorbic acid 2,84 mmol/l (0,5 g/l) do not interfere. Other drugs and substances may interfere⁴.

These metrological characteristics have been obtained using an analyzer. Results may vary if a different instrument or manual procedures are used.

DIAGNOSTIC CHARACTERISTICS

The aminotransferase catalyze the formation of glutamic acid from 2-oxoglutarate by transfer of amino groups.

ALT is normally present in various tissues but its higher concentrations are found in liver and kidney.

The serum concentration of ALT is elevated in hepatitis and other forms of hepatic disease associated with necrosis: infectious mononucleosis, cholestasis, cirrhosis, metastatic carcinoma of the liver, delirium tremens, and after administration of various drugs, such as opiates, salicylates or ampicillin. Serum ALT concentration can also be elevated in skeletal or cardiac muscle disease^{5,6}.

BIBLIOGRAPHY

1. Sociedad Española de Química Clínica, Comité científico, Comisión de Enzimas. Método recomendado para la determinación en rutina de la concentración catalítica de la alanina aminotransferasa en suero sanguíneo humano. Quim. Clin > 1987; 6: 241-244.
2. Approved recommendation (1985) on IFCC methods for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes. Part 3: IFCC method for Alanine Aminotransferase (EC 2.6.1.2) J Clin Chem Clin Biochem 1986. 24: 481-495.
3. Gella FJ, Olivella T, Cruz Pastor M, Arenos J, Moreno R, Durban R and Gomez JA. A simple procedure for routine determination of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase with pyridoxal phosphate Clin Chim Acta 1985. 153: 241-247.
4. Expert Panel on enzyme of the IFCC, Clin. Chem. Acta, 1976. 70: F19.
5. Friedman and Young, Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press. 1987.
6. Tietz NW, Clinical guide to laboratory tests, 2nd ed. Saunders Co, 1991.