

**ГЛУТАМАТ-ПИРУВАТ ТРАНСМИНАЗА (ГПТ)
(АЛТ)**

Кат. № : D94620; D98624
 Производитель: DIALAB (Австрия)

Методика от 01-03-2006

Внимание: основой при проведении анализа есть оригинал инструкции на англ. языке.

Диагностический реагент для количественного определения на фотометрических системах *in vitro* ГПТ (АЛТ) в человеческой сыворотке или плазме.

Ссылка	Содержимое		
D94620	5 x 100 мл	4 x 100 мл 1 x 100 мл	Реагент 1 Реагент 2
D98624	5 x 100 мл	4 x 50 мл 1 x 50 мл	Реагент 1 Реагент 2

Дополнительно поставляются:

D96361	1 x 4 мл	Пиридоксаль-5-фосфат	
D98485	5 x 3 мл	Калибратор	Diacal Auto
D98481	12 x 5 мл	Контроль норма	Diacon N
D98482	12 x 5 мл	Контроль патология	Diacon P

ПАРАМЕТРЫ АНАЛИЗА

Метод:	УФ, кинетический, возрастающей реакции, адаптированный IFCC
Длина волны:	340 нм, Hg 334 нм, Hg 365 нм
Температура:	25°C, 30°C, 37°C
Образец:	сыворотка, ЭДТА-, гепариновая плазма
Линейность:	до 600 Е/л на Hitachi 911
Чувствительность:	нижний предел определения – 4 Е/л

СОСТАВ РЕАГЕНТОВ

Компоненты	Конечная концентрация
Реагент 1	
Tris, pH 7.5	100 ммоль/л
L-аланин	500 ммоль/л
LDH	≥ 1800 Е/л
Реагент 2	
2-оксоглутарат	15 ммоль/л
NADH	0,18 ммоль/л

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Субстрат:
 Реагенты готовы к применению.

Образец:
 Смешайте 4 части P1 + 1 часть P2 (=рабочего реагента).

СТАБИЛЬНОСТЬ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Условия: защищать от света, немедленно закрывать после использования. Реагенты не замораживать!

Субстрат:
 Хранение: при 2 – 8°C
 Стабильность: до окончания срока годности
Образец (рабочий реагент):
 Хранение: при 2 – 8°C 4 недели
 Стабильность: при 15 – 25°C 5 дней
 Максимально разрешимая абсорбция рабочего реагента, измеренная при 340 нм в соотношении с водой как референтным материалом, составляет 1,6.

СТАБИЛЬНОСТЬ И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Потеря активности: при 2 – 8°C < 10% в теч. 3 дней
 при 15 – 25°C < 17% в теч. 3 дней
 Стабильность: при - 20°C минимум 3 месяца
 Удалить загрязненные образцы.

ПЕРЕКРЕСТНО-РЕАГИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА

Нет перекрестной реакции в концентрациях до:
 Аскорбиновая кислота 30 мг/дл
 Билирубин 40 г/дл
 Триглицериды 2000 мг/дл
 Гемоглобин 400 мг/дл

РУЧНАЯ ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Приведите реагенты и образцы к комнатной температуре.
Примечание: Если используется фосфат пиридоксала (ФР), пожалуйста, обратитесь к инструкции для ФР перед проведением анализа (только для субстрата).

Субстрат

Внесите в пробирки для анализа:	25°C, 30°C	37°C
Реагент 1	1000 мкл	1000 мкл
Образец	200 мкл	100 мкл
Смешать, инкубировать приблиз. 5 мин. Затем добавить:		
Реагент 2	250 мкл	250 мкл
Смешать. Считать вхолостую первичную абсорбцию через 1 мин. и включить таймер. Считать абсорбцию снова ровно через 1,2 и 3 минуты.		

Образец

Внесите в пробирки для анализа:	25°C, 30°C	37°C
Рабочий реагент для образца	1000 мкл	1000 мкл
Образец	200 мкл	100 мкл
Смешать, инкубировать приблиз. 1 мин. Затем добавить:		
Реагент 2	250 мкл	250 мкл
Смешать. Считать вхолостую первичную абсорбцию через 1 мин. и включить таймер. Считать абсорбцию снова ровно через 1,2 и 3 минуты.		

ВЫЧИСЛЕНИЕ (световая дорожка 1 см)

ГПТ (Е/л) = ΔА/мин. x коэффициент

Коэффициенты:

Субстрат:	25° или 30°C	37°C
Коэффициент при 340 нм	1151	2143
Коэффициент при 334 нм	1173	2184
Коэффициент при 365 нм	2132	3971
Образец:	25° или 30°C	37°C
Коэффициент при 340 нм	952	1745
Коэффициент при 334 нм	971	1780
Коэффициент при 365 нм	1765	3235

ПРЕОБРАЗОВАНИЕ ЕДИНИЦ

Е/л x 0,1667 = мккатал/л

РЕФЕРЕНТНЫЙ ДИАПАЗОН* (Е/л)

Без добавления фосфата пиридоксала:

	25°C	30°C	37°C
Мужчины	< 22	< 29	< 41
Женщины	< 17	< 22	< 31

С добавлением фосфата пиридоксала:

		30°C	37°C
Мужчины		7 – 36	10 – 50
Женщины		7 – 25	10 – 35

*Рекомендуется, чтобы каждая лаборатория устанавливала свой собственный диапазон нормы.

ПРИНЦИП АНАЛИЗА

NADH окисляется к NAD⁺, образовавшееся понижение в спектральной поглощательной способности при 340 нм непосредственно пропорционально активности ГПТ в образце: L-аланин + 2-оксоглутарат < ГПТ > пируват + L-глутамат
 Пируват + NADH + H⁺ < LDH > L-лактат + NAD⁺
 Это адаптированная реакция для анализа ГПТ, как рекомендовано IFCC (Международной федерацией клинической химии). Эталонный метод IFCC включает пиридоксаль фосфат (ПФ). ПФ функционирует как кофермент в передаче АА, поэтому добавление ПФ ведет к увеличению ферментной активности. Это предотвращает ошибочно низкие значения в образцах, содержащих недостаточный объем эндогенного ПФ, например, у пациентов с инфарктом миокарда, болезнью печени и интенсивной терапией.

СОКРАЩЕНИЯ

AA	=	Аминокислота
GPT	=	Глутамат-пируват трансминаза
NAD ⁺	=	Никотинамид аденин динуклеотид
NADH	=	Восстановленный NAD
LDH	=	Лактат дегидрогеназа

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**Линейность**

Данный анализ является линейным до $\Delta A/\text{мин.} = 0,16$ при 340 нм и 334 нм или 0,08 при 365 нм.

Превыше этой концентрации разбавьте образец раствором NaCl (9 г/л хлорида натрия в воде) и повторите анализ, умножая результат на коэффициент разбавления.

Точность (при 37°C)

Без пиридоксаль-5-фосфата

В пределах процедуры к-во = 20	Среднее значение (Е/л)	СО (Е/л)	КВ (%)
Образец 1	22,2	1,38	6,22
Образец 2	44,8	1,17	2,62
Образец 3	101	1,02	1,00
Между процедурами к-во = 20	Среднее значение (Е/л)	СО (Е/л)	КВ (%)
Образец 1	22,8	0,70	3,08
Образец 2	42,6	0,68	1,60
Образец 3	99,3	0,92	0,92

С пиридоксаль-5-фосфатом

В пределах процедуры к-во = 20	Среднее значение (Е/л)	СО (Е/л)	КВ (%)
Образец 1	33,8	1,25	3,71
Образец 2	72,0	2,04	2,83
Образец 3	128	2,77	2,16
Между процедурами к-во = 20	Среднее значение (Е/л)	СО (Е/л)	КВ (%)
Образец 1	33,3	0,99	2,96
Образец 2	72,1	1,36	1,88
Образец 3	133	1,76	1,32

МЕТОД СРАВНЕНИЯ

Без пиридоксаль-5-фосфата

Сравнение между ГПТ (АЛТ) Dialab без П-5-Ф (у) и имеющимся в продаже анализом (х), с использованием 78 образцов, дало следующие результаты: $y = 1,00 x + 0,00$ Е/л; $r = 0,999$.

С пиридоксаль-5-фосфатом

Сравнение между ГПТ (АЛТ) Dialab с П-5-Ф (у) и имеющимся в продаже анализом (х), с использованием 80 образцов, дало следующие результаты: $y = 1,00 x + 0,00$ Е/л; $r = 0,994$.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Могут быть использованы все контрольные сыворотки со значениями ГПТ, определяемые данным методом. Рекомендуется:

Ссылка	Содержимое		
D98481	12 x 5 мл	Diacon N	Проверенная контрольная сыворотка норма
D98482	12 x 5 мл	Diacon P	Проверенная контрольная сыворотка патология

КАЛИБРОВКА

Использование ГПТ калибратора является выборочным. Мы рекомендуем:

Ссылка Содержимое

D98485 5 x 3 мл **DIACAL AUTO** проверенная мультикалибровочная сыворотка

АВТОМАТИЗАЦИЯ

По требованию для автоматизированных анализаторов могут быть проведены специальные адаптации.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

Следуйте требуемым предостережениям относительно использования лабораторных реагентов.

РЕГУЛИРОВАНИЕ УТИЛИЗАЦИИ ОТХОДОВ

Ссылайтесь на местные требования законодательства.

ЛИТЕРАТУРА

(См. в оригинале инструкции).

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:

ЧМП «ДИАМЕБ»
 Ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005
 Тел.: (0342) 775122
 Тел/факс: (0342) 775612
 E-mail: info@diameb.com
www.diameb.com