

Таблиця 4 «Залежність коефіцієнту розведення від показника активності»

№	Активність			Розведення (проба:дистл)	Коефіцієнт
	мкмоль/(год·мл)	мккат/л	Од/л		
1	(2,0-2,5)	(0,56–0,70)	(33,34-41,68)	1 : 2	x 3
2	(2,5-2,87)	(0,70–0,80)	(41,68-47,84)	1 : 4	x 5
3	(2,87-3,59)	(0,80–1,00)	(47,84-59,84)	1 : 9	x 10
4	(3,59-4,31)	(1,00–1,20)	(59,84-71,84)	1 : 29	x 30
5	≥ 4,31	≥ 1,2	≥ 71,84	1 : 49	x 50

3 При дослідженні захворювання пацієнта у динаміці, співвідношення розведення рекомендується робити однаковим протягом всього періоду дослідження (наприклад, сироватка/плазма крові : фізрозчин = 1 : 9, x 10).

4 Гемоліз, аспірин, барбітурати, опіати, пеніцилін (хімічна інтерференція) завищують активність ферменту.

5 Для візуально патологічних сироваток: хелезних (ліпімічних), жовтушних ставиться індивідуальна холоста проба. Гемолізовані сироватки не використовувати.

6 Рекомендується перед кожним проведенням аналізу контролювати показник абсорбції холостої проби з сироваткою на відтворюваність.

7 Дистильована вода для розведення луку повинна бути якісною, свіжо перегнаною, зберігатися у відповідному закритому від повітря посуді. При наявності карбонатів у дистилаті при розчиненні луку відбувається помутніння, випадає осад. Кип'ятити дистилат для уникнення домішок карбонатів не має потреби.

8 Розчин гідроксиду натрію необхідно додавати у пробірку рівномірно: не дуже швидко і не дуже повільно. Від швидкості додавання може залежати величина абсорбції проби.

Застережні заходи

1 Використовують тест-набір тільки для діагностики in vitro.

2 Калібрувальний розчин, субстратно-буферний розчин, розчин 2,4-ДНФГ – отруйні речовини. Гідроксид натрію – їдка речовина. Запобігати контакту зі шкірою та слизовими оболонками.

3 Необхідно дотримуватись правил техніки безпеки при роботі з біологічним матеріалом, так як зразки крові розглядаються як потенційно інфікованими (ВІЛ, вірус гепатиту В, вірус гепатиту С).

Утилізація відходів

Утилізація відходів повинна здійснюватися в відповідності з правилами безпеки Вашого закладу.

Дата останнього перегляду інструкції з використання 07.01.2026 р.

3 питань контролю якості та придбання реактивів звертатися за адресою:

ПрАТ «Реагент», 49019, м. Дніпро, вул Ударників, 27. Факс: (056)372-35-54. Мобіл.телефони: (050)452-20-76/85;(067)638-11-37;(050)481-75-46;(099)065-32-59 Відділ технічного контролю : (099)545-72-05 ; (050)495-80-78.

E-mail: reagent@ukr.net; reagentn@ukr.net



IVD

“ПОГОДЖЕНО”
Директор ДП «Український
медичний центр сертифікації»
Лебідев М.С.
від 30.06.2016 р.

Технічна документація перевірена
Державним підприємством «Український
медичний центр сертифікації»:
Сертифікат перевірки технічної документації
№ UA.TR.039.189-16 від 30.06.2016 р.

ДВ	047
30.06.2016	

ТУ У 24.4-13433137-047-2003

REF АФ 001.1-01

ІНСТРУКЦІЯ ДО НАБОРУ РЕАКТИВІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ АЛАНІНАМІНОТРАНСФЕРАЗИ МЕТОДОМ РАЙТМАНА-ФРЕНКЕЛЯ (600 мл робочого розчину + калібратор 2 ммоль/л) «АЛАТ-600»

Призначення

Набір застосовують для визначення активності аланінамінотрансферази у сироватці (плазмі) крові людини в біохімічних лабораторіях.

Термін придатності та умови зберігання тест-набору

Гарантійний термін придатності з моменту виготовлення – 12 місяців при температурі (2 – 8) °С. Не слід використовувати тест-набір після закінчення терміну придатності зазначеного на упаковці. Не допускати перемерзання або витримувати тест-набору при високих температурах оточуючого повітря.

Кількість проб

Макровизначенням № 1/№ 2 – 100/125 проб; напівмакровизначенням № 1/№ 2 – 200/250 проб ; мікровизначенням – 500 проб.

Лабораторія має право робити перерахунок на свій об'єм фотометруємого розчину, співвідношення беруться в тих самих пропорціях. Співвідношення сироватки/плазми крові:субстратно-буферного розчину:2,4-ДНФГ:гідроксиду натрію = 1 : 5 : 5 : 50.

Аналітичні показники

Лінійна область: (0 - 2,5) мкмоль/(год x мл); (0 - 0,7) мккат/л; (0 - 41,67) Од/л. Коефіцієнт варіації – не більше 6 %.

Склад набору

- 1 Калібрувальний розчин (2,00 ± 0,03) ммоль/л - 1 ампула з (5,0 ± 0,1) мл
- 2 Субстратно-буферний розчин, рН (7,4 ± 0,2) - 1 флакон з (50,0 ± 1,0) мл
фосфатний буфер (100,0 ± 2,0) ммоль/л; DL-аланін (200,0 ± 4,0) ммоль/л
α-кетоглутарова кислота (2,0 ± 0,04) ммоль/л
- 3 Розчин 2,4-ДНФГ (1±0,02) ммоль/л в підкислювачі - 1 флакон з (50,0 ± 1,0) мл
- 4 Розчин гідроксиду натрію (4,0 ± 0,08) N - 1 флакон з (50,0 ± 1,0) мл

Обладнання

- 1 Пробірки лабораторні ємністю 10 мл.
- 2 Мірна колба 500 мл.
- 3 Піпетки ємністю: 0,1; 1,0 і 5,0 мл або лабораторні медичні дозатори.
- 4 Термостатичне обладнання для підтримання температури 37 °С.
- 5 Фотометричне обладнання, кювети з довжиною оптичного шляху 10 (5 або 3) мм. Довжина хвилі 505 (500-550) нм.

Приготування робочих розчинів та умови їх зберігання

1 Калібрувальний розчин піровинограднокислого натрію (пірувату натрію) з концентрацією 2,0 ммоль/л - готовий до застосування. Після відкупорювання калібрувальний розчин стабільний до 3 місяців при температурі (2 – 8) °С.

1.1 При необхідності. Калібрувальний розчин піровинограднокислого натрію (пірувату натрію) з концентрацією 1,0 ммоль/л. Піруват натрію з концентрацією 2 ммоль/л розводять у співвідношенні 1 : 1. Розчин не стабільний, тому збереженню не підлягає.

2 Субстратно-буферний розчин - готовий до застосування. Після відкупорювання стабільний до 3 місяців при температурі (2 – 8) °С.

3 Розчин 2,4-динітрофенілгідразину - готовий до застосування. Стабільний після відкупорювання 1 рік при кімнатній температурі.

4 Розчин гідроксиду натрію з концентрацією 0,4 N. Вміст флакону з 50 мл концентрованого розчину гідроксиду натрію кількісно переносять у мірну колбу на 500 мл. Доводять до мітки дистильованою водою. Зберігають у герметичному пластиковому посуді (не використовувати ПЕТ) при кімнатній температурі. Розчин стабільний до 3 місяців.

Референтні значення

У сироватці/плазмі крові: (0,1 - 0,68) мкмоль/(год х мл);

(0,028 - 0,18) мккат/л; (1,66 - 11,33) Од/л.

Не порівнюйте результати з результатами кінетичних методів визначення (різна лінійність, різна норма, складний коефіцієнт перерахунку).

Примітки

У наданій інструкції прийняті скорочення: Д – дослідна; Х – холоста проба.

Принцип методу

Внаслідок переамінування, яке відбувається під дією аланінамінотрансферази [2.6.1.2.], утворюються глутамінова та піровиноградна кислоти. При додаванні 2,4-динітрофенілгідразину в лужному середовищі утворюється забарвлений гідразон піровиноградної кислоти. За величиною абсорбції визначають активність ферменту.

Проведення аналізу

Таблиця 1 в мілілітрах

Компоненти	Макро № 1/№ 2		Напівмакро №1/ 2		Мікро	
	Д	Х	Д	Х	Д	Х
Субстратно-буф.	0,5 (0,4)	0,5 (0,4)	0,25(0,2)	0,25(0,2)	0,1	0,1
Інкубують 5 хв при температурі 37 °С						
Сироватка	0,1 (0,08)	—	0,05(0,04)	—	0,02	—
Інкубують 60 хв при температурі 37 °С						
2,4-ДНФГ	0,5 (0,4)	0,5 (0,4)	0,25(0,2)	0,25(0,2)	0,1	0,1
Сироватка	—	0,1 (0,08)	—	0,05(0,04)	—	0,02
Витримують 20 хв при кімнатній температурі						
Гідроксид натрію	5,0 (4,0)	5,0 (4,0)	2,5 (2,0)	2,5 (2,0)	1,0	1,0
Витримують 10 хв при кімнатній температурі. Вимірюють оптичну густину дослідної проби проти холостої проби. Забарвлення стійке 1 годину						

Побудова калібрувального графіку - піруват натрію 2,0 ммоль/л
Таблиця 2 в мілілітрах

Компоненти	Х	Калібрувальні проби				
		1	2	3	4	5
Фізіологічний розчин	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Субстратно-буферний	0,500	0,485	0,475	0,450	0,400	0,350
Калібратор 2,0 ммоль/л	—	0,015	0,025	0,050	0,100	0,150
2,4 – ДНФГ	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500
Витримують 20 хв при кімнатній температурі						
Гідроксид натрію	5,000	5,000	5,000	5,000	5,000	5,000
Витримують 10 хв при кімнатній температурі. Вимірюють оптичну густину калібрувальних проб проти холостої проби						
мкмоль/(год·мл)	0	0,300	0,500	1,000	2,000	3,000
мккат/л	0	0,083	0,139	0,278	0,556	0,834
Од/л	0	4,990	8,330	16,67	33,34	50,01

Побудова калібрувального графіку - піруват натрію 1,0 ммоль/л
Таблиця 3 в мілілітрах

Компоненти	Х	Калібрувальні проби				
		1	2	3	4	5
Дистильована вода	0,600	0,585	0,575	0,550	0,500	0,450
Калібратор 1,0 ммоль/л	—	0,015	0,025	0,050	0,100	0,150
2,4-ДНФГ	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500
Витримують 20 хв при кімнатній температурі						
Гідроксид натрію	5,000	5,000	5,000	5,000	5,000	5,000
Витримують 10 хв при кімнатній температурі. Вимірюють оптичну густину калібрувальних проб проти холостої проби						
мкмоль/(год·мл)	0	0,300	0,500	1,000	2,000	3,000
мккат/л	0	0,083	0,139	0,278	0,556	0,834
Од/л	0	4,990	8,330	16,67	33,34	50,01

Контроль якості

Правильність визначення активності АлАТ перевіряється контрольними сироватками, атестованими за методом Райтмана-Френкеля. Контрольні сироватки повинні мати документи (Декларації Відповідності), що підтверджують правомірність використання їх в Україні.

Вимоги до проби

1 Сироватка крові без гемолізу. Плазма (гепарин, ЕДТО). Стабільність аналіту до 72 годин при температурі (2 – 8) °С.

2 При активності ферменту $\geq 2,5$ мкмоль/(год х мл); $\geq 0,7$ мккат/л; $\geq 41,67$ Од/л пробу розводять. Сироватку/плазму крові розводять: фізіологічним розчином, або дистильованою водою, або 5 % розчином альбуміну, виготовленим на фізіологічному розчині. Отриманий результат треба перемножити на коефіцієнт розведення згідно таблиці 4.

РЕАГЕНТ

ОТК