

АМИНОТРАНСФЕРАЗА АсАТ-АлАТ (AST-ALT 180)

Ном. номер 10003152

Хранить
(с +2 до +8) °С

Набор реактивов для приготовления 1200 мл рабочих растворов для определения каталитической концентрации аминотрансферазы АсАТ и АлАТ в сыворотке крови. Объем достаточен для 180 анализов.

Принцип метода

Аспарат-аминотрансфераза (L-аспарат: 2-оксоглутарат аминотрансфераза, К. Ф. 2.6.1.1.) катализирует реакцию между L-аспаратом и 2-оксоглутаратом, в результате которой они превращаются в L-глутамат и оксалацетат. Определение основано на измерении оптической плотности гидразонов 2-оксоглутаровой и пировиноградной кислот в щелочной среде. Гидразон пировиноградной кислоты, возникающей при самопроизвольном декарбоксилировании оксалацетата, обладает более высокой оптической плотностью.

Аланин-аминотрансфераза (L-аланин: 2-оксоглутарат аминотрансфераза, К. Ф. 2.6.1.2.) катализирует реакцию между L-аланином и 2-оксоглутаратом, в результате которой они превращаются в L-глутамат и оксалацетат. Определение основано на измерении оптической концентрации гидразонов 2-оксоглутаровой и пировиноградной кислот в щелочной среде. Гидразон пировиноградной кислоты обладает более высокой оптической плотностью.

Литература

Reitman, S., Frankel, S.: Amer. J. Clin. Pathol. 28, 56 (1957)
Ševela, M.: Vnitřní lék. 4, 721 (1958)
Továrek, J.: Praktický lék. 42, 500 (1962)

Реактивы

- 1 Эталонный раствор (3 мл)
натрий пировинограднокислый 2 ммоль/л
- 2 2,4-динитрофенилгидразин (100 мл)
раствор 1 ммоль/л в HCl 1 моль/л
- 3 Натрий гидроокись (1 флакон)
- 4 Субстрат АсАТ (50 мл)
фосфатный буфер 0,1 моль/л, L-аспарат 0,2 моль/л,
2-оксоглутарат 2 ммоль/л
- 5 Субстрат АлАТ (50 мл)
фосфатный буфер 0,1 моль/л, DL-альфа-
-аланин 0,2 моль/л, 2-оксоглутарат 2 ммоль/л

Состав инкубационной смеси

Аминотрансфераза АсАТ
Фосфатный буфер pH 7,4 (25 °С) 83,0 ммоль/л
L-аспарат 83,0 ммоль/л
2-оксоглутарат 1,7 ммоль/л
Соотношение сыворотка крови/инкубационная смесь 1/6

Аминотрансфераза АлАТ
Фосфатный буфер pH 7,4 (25 °С) 83,0 ммоль/л
DL-альфа-аланин 166,0 ммоль/л
2-оксоглутарат 1,7 ммоль/л
Соотношение сыворотка крови/инкубационная смесь 1/6

Референтные величины

АсАТ, АлАТ (мккат/л) 0,06 – 0,14
Предельные величины 0,42
Приведенный диапазон референтных значений является ориентировочным. Рекомендуется каждой лаборатории вычислять свои диапазоны нормальных величин.

Воспроизводимость

Около ± 8%

Калибровка и контроль

Рекомендуемые контрольных материалов со значениями для определения АЛТ / АСТ данного метода.

Вспомогательный реактив (не входит в состав набора)

Физиологический раствор
Приготавливают растворением 0,9 г хлорида натрия в 100 мл дистиллированной воды.

Приготовление рабочего раствора

Раствор гидроокиси натрия
В мерной колбе вместимостью 1000 мл растворяют в дистиллированной воде содержащее флакона с Реактивом 3.
Устойчивость: раствор устойчив.

Проведение анализа

Длина волны (500–530) нм, кювета 1 см, температура инкубации (37 ± 0,1) °С. Реактив 4 и 5 перед анализом нагревают до (37 ± 0,1) °С.

Отмерить (мл)	Проба	Контрольный раствор
Реактив 4 или 5	0,25	0,25
Физиологический раствор	–	0,05
Предварительно инкубируют в течение 3 мин при 37 °С		
Сыворотка крови	0,05	–
Инкубируют точно 60 мин при 37 °С		
Реактив 2	0,25	0,25
Перемешивают и оставляют стоять 20 мин при температуре (с +15 до +25) °С		
Раствор NaOH	2,50	2,50
Перемешивают и спустя 10 мин измеряют оптическую плотность пробы против контрольного раствора (А) для АсАТ при (В) для АлАТ.		

Калибровка

В обозначенные пробирки вносят пипеткой отдельные растворы в вышеприведенном порядке. После добавления Реактива 2 содержимое пробирок перемешивают и спустя 20 мин добавляют раствор NaOH. Через 10 мин измеряют оптическую плотность раствора № 2–5 против раствора № 1. Строят калибровочный график зависимости оптической плотности от кат. концентрации соответствующего фермента АсАТ или АлАТ.

Раствор №	Физиол. раствор (мл)	Реатив 4 или 5 (мл)	Реактив 1 (мл)	Реактив 2 (мл)	Раствор NaOH (мл)	Конечная кат. конц. (мккат/л)
1	0,10	0,50	–	0,50	5,00	0
2	0,10	0,45	0,05	0,50	5,00	0,28
3	0,10	0,40	0,10	0,50	5,00	0,56
4	0,10	0,35	0,15	0,50	5,00	0,83
5	0,10	0,30	0,20	0,50	5,00	1,11

Расчет

По оптической плотности пробы (А) или (В) на соответствующем калибровочном графике находят кат. концентрацию АсАТ или АлАТ в сыворотке крови.

Предупреждение

Пробы сыворотки крови можно хранить даже неделю при (с +2 до +8) °С. При кат. концентрации ферментов свыше 0,56 мккат/л анализ следует повторить с сывороткой, разведенной физиологическим раствором (результат х разведение).

При кат. концентрации фермента	Разведение
(0,56 – 0,70)	3x
(0,70 – 0,80)	5x
(0,80 – 1,00)	10x
(1,00 – 1,20)	30x
свыше 1,20	50x

Повышенное содержание кетовеществ (в сыворотках диабетиков) вызывает завышение активности ферментов АсАТ и АлАТ. В таких случаях необходимо вычесть из оптической плотности пробы (А) или (В) оптическую плотность сывороточного контрольного раствора. Сывороточный контрольный раствор приготавливают точно так же, как пробу, с той лишь разницей, что сыворотку добавляют в пробирку после Реактива 2. Гемоллиз повышает кат. концентрацию ферментов АсАТ и АлАТ. Снижение результатов вызывают синтетические моющие средства (сапунаты).

Меры предосторожности

Набор реактивов предназначен для *in vitro* диагностики профессионально обученным лаборантом.

Реагенты 1 и 2 не классифицируются как опасные.

Реактив 3 содержит гидроокись натрия (100%), являющийся едким веществом.



Опасность

Обозначение опасности:

H314 Вызывает серьезные ожоги кожи и повреждения глаз.

Меры предосторожности:

P280 Пользоваться защитными перчатками/защитной одеждой/средствами защиты глаз.

P301+P330+P331 ПРИ ПРОГЛАТЫВАНИИ: Прополоскать рот. НЕ вызывать рвоту. P303+P361+P353 ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Немедленно снять всю загрязненную одежду, промыть кожу водой/под душем.

P305+P351+P338 ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы пользуетесь ими и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз.

Реагенты 4 и 5 не классифицируются как опасные, но содержат в низкой концентрации азид натрия, являющийся ядовитым веществом.

При работе необходимо соблюдать правила личной гигиены, запрещается есть, пить и курить, надо использовать предохранительные средства.

Оказание первой помощи

При приеме внутрь следует выпить 0,5 л воды. При попадании в глаза их следует промыть в токе воды. При попадании на кожу ее следует вымыть проточной водой с мылом. Пострадавшему необходимо оказать медицинскую помощь.

Ликвидация мусора

Все тестированные пробы считают материалом, который может быть инфицирован, и совместно с возможными остатками реактивов подлежат уничтожению в соответствии с утвержденными внутрибольничными правилами.

Бумажную упаковку сдайте в макулатуру, выполосканую заводскую тару в сортированный мусор.

Дата проведения последнего контроля: 3. 3. 2015