



In vitro solutions

# Набор биохимических реагентов для ветеринарии

## АЛАНИНАМИНОТРАНСФЕРАЗА

### ДиаВетТест



#### НАЗНАЧЕНИЕ

АЛАНИНАМИНОТРАНСФЕРАЗА ДиаВетТест – это набор жидких, готовых к употреблению реагентов для определения активности АЛТ в сыворотке крови животных и птиц кинетическим методом.

Набор реагентов должен использоваться квалифицированным персоналом в области ветеринарной лабораторной диагностики.

Количество определений зависит от объема фасовки реагентов и типа используемого биохимического анализатора.

#### МЕТОД

Оптимизированный УФ тест без пиродоксальфосфата в соответствии с рекомендациями IFCC (Международной Федерации Клинической Химии и Лабораторной Медицины).

#### ПРИНЦИП МЕТОДА

Аланинаминотрансфераза катализирует в присутствии  $\alpha$ -кетоглутарата переаминирование L-аланина с образованием пирувата. В присутствии лактатдегидрогеназы происходит окисление НАДН. Скорость окисления НАДН прямо пропорциональна активности аланинаминотрансферазы и измеряется фотометрически при длине волны 340 нм.

#### СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1	Буферно-субстратный раствор
Реагент 2	Буферный раствор

Реагенты и калибраторы ДиаВетТест поставляются жидкими и готовыми к использованию.

#### АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Параметр	Значение
Линейность	10–500 Е/л
Отклонение от линейности	не более 5%
Чувствительность	не более 10 Е/л
Кoeffициент вариации	не более 5%

**Примечание.** Нормальные показатели для разных животных могут варьировать в широких пределах. При активности аланинаминотрансферазы в сыворотке крови более 500 Е/л (изменение оптической плотности пробы в минуту  $\Delta A/\text{мин}$  не должно превышать 0,16) анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором (0,9% NaCl) в 5 раз, повторить анализ и полученный результат умножить на 5.

#### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для калибровки автоматических фотометрических систем и уточнения фактора пересчета для полуавтоматических биохимических анализаторов рекомендуем использовать мультикалибратор TruCal U производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия).

Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов проводите измерение контрольной сыворотки «Норма» (TruLab N) и контрольной сыворотки «Патология» (TruLab P) (IFCC без P5P 37°C) производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия). Возможно использование других контрольных сывороток, аттестованных данным методом и не уступающих по своим свойствам рекомендуемому.

Калибровку рекомендуем проводить в следующих случаях: при непрохождении контроля качества (в случае выхода значений контроля качества за пределы установленных диапазонов для используемого лота контрольного материала), при использовании набора новой серии, при уточнении фактора пересчета.

#### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Только для диагностики *in vitro*.

2. При работе с реагентами набора соблюдайте осторожность и не допускайте их попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промойте пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

3. Предпринимать стандартные при работе с лабораторными реагентами меры предосторожности.

4. Не использовать реагенты и контроли после истечения срока годности.

#### ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

**Биреагентная схема – запуск реакции субстратом.**

Реагенты 1 и 2 готовы к использованию.

**Монореагентная схема – запуск реакции образцом.**

Для приготовления рабочего реагента: смешать 4 объема Реагента 1 и один объем Реагента 2. Для стабилизации компонентов раствора рабочий реагент перед использованием следует выдержать 20–30 мин при комнатной температуре (15–25°C). Рабочий реагент можно хранить в темном месте при температуре 2–8°C не более месяца или при комнатной температуре (15–25°C) не более 5 суток при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения.

Следует тщательно закрывать флаконы с Реагентами 1 и 2 непосредственно после каждого использования, в том числе при хранении на борту автоматических биохимических анализаторов (в нерабочее время).

Лиофилизированный мультикалибратор TruCal U производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия) готовят согласно прилагаемой к каждому лоту инструкции.

#### ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

*Адаптации к автоматизированным системам запрашивайте дополнительно.*

Перед проведением анализа рабочий реагент следует прогреть при температуре  $37 \pm 1,0^\circ\text{C}$  в течение 5 мин.

Компоненты реакционной смеси отбирать в количествах, указанных в таблицах.

#### Биреагентная схема – запуск реакции субстратом

Отмерить, мкл	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Мультикалибратор	–	100	–
Образец	–	–	100
Реагент 1	–	1000	1000
Перемешать, инкубировать 5 мин, затем добавить:			
Реагент 2	–	250	250
Перемешать. Через 1 мин измерить оптическую плотность ( $A_1$ ) и включить секундомер. Измерить оптическую плотность ( $A_2$ ) через 1, 2 и 3 мин при длине волны 340 нм, при 37°C, относительно холостой пробы, в кюветках с длиной оптического пути 1 см.			

#### Монореагентная схема – запуск реакции образцом

Отмерить, мкл	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Мультикалибратор	–	100	–
Образец	–	–	100
Рабочий реагент	–	1000	1000
Пробу и рабочий реагент перемешать. Через 1 мин измерить оптическую плотность ( $A_1$ ) и включить секундомер. Измерить оптическую плотность ( $A_2$ ) через 1, 2 и 3 мин при длине волны 340 нм, при 37°C, относительно холостой пробы, в кюветках с длиной оптического пути 1 см.			

Вычислить среднее значение  $\Delta A/\text{мин}$  образца/мультикалибратора



**Примечание.** Количество реагентов и анализируемых образцов может быть пропорционально изменено в зависимости от объема используемой кюветы и типа используемого биохимического анализатора (соотношение образца к **рабочему реагенту** составляет 1:10).

## РАСЧЕТЫ

### По мультикалибратору

$$\text{Активность АЛТ [Е/л]} = \frac{\Delta A / \text{мин}_{\text{оп}}}{\Delta A / \text{мин}_{\text{кал}}} \times \text{Активность АЛТ в мультикалибраторе [Е/л]}$$

где:  $\Delta A / \text{мин}_{\text{оп}}$  – изменение оптической плотности опытной пробы в минуту, ед.опт.пл.;  
 $\Delta A / \text{мин}_{\text{кал}}$  – изменение оптической плотности калибровочной пробы в минуту, ед.опт.пл.

## СПЕЦИФИЧНОСТЬ/ПОМЕХОУСТОЙЧИВОСТЬ

Аскорбиновая кислота до 30 мг/дл, билирубин до 40 мг/дл, гемоглобин до 400 мг/дл и липемия до 2000 мг/дл триглицеридов не влияют на точность анализа. Дополнительные вещества (АЛФ), устраняющих липемичность сыворотки, не требуется.

## ТРАНСПОРТИРОВКА, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре 2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается хранение наборов при температуре до 25°C не более 5 суток.

### Замораживание компонентов набора не допускается.

Транспортирование должно производиться с использованием крытого грузового авто, авиа, ж/д транспорта, в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре 2-8°C. Допускается транспортирование наборов при температуре до 25°C не более 5 суток.

### Срок годности набора – 18 месяцев.

### Прекратить применение серии изделия по истечению срока ее годности.

При соблюдении условий хранения все компоненты набора стабильны в течение всего срока годности.

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов можно хранить при температуре 2–8°C в течение всего срока годности набора при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения.

Рабочий реагент можно хранить в темном месте при температуре 2–8°C не более месяца или при комнатной температуре (15–25°C) не более 5 суток при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

## ТРЕБОВАНИЯ ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Набор АЛАНИНАМИНОТРАНСФЕРАЗА ДиаВетТест не содержит взрывоопасных веществ, представляющих угрозу окружающей среде и здоровью медицинского персонала.

## УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ

Утилизацию после проведения исследования следует проводить в соответствии с местными правилами, принятыми для лабораторных отходов.

## ИЗГОТОВИТЕЛЬ

АО «ДИАКОН-ДС», 142290, Московская область, г. Пущино, ул. Грузовая, д.1а.

Система менеджмента качества сертифицирована на соответствие требованиям: EN ISO 13485, ГОСТ ISO 13485



## ПАМЯТКА ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ

Аланинаминотрансфераза – эндогенный фермент из группы трансфераз, подгруппы аминотрансфераз (трансаминаз). АЛТ синтезируется внутриклеточно, в норме лишь небольшая часть этого фермента попадает в кровь. Наибольшая его концентрация отмечается в сердце, печени и почках. Этот фермент участвует в образовании большого количества различных аминокислот, катализируя превращение  $\alpha$ -кетокислот в аминокислоты. Он задействован в азотистом и энергетическом обменах. В крови здорового организма АЛТ представлена в минимальной концентрации.

Набор реагентов (АЛАНИНАМИНОТРАНСФЕРАЗА ДиаВетТест) возможно использовать на различных моделях полуавтоматических и автоматических и биохимических анализаторов открытого типа.

Не допускается использование набора по истечению срока годности, указанной на упаковке!

### Показания к применению

При повреждении печени (при гепатитах, циррозе печени) в результате цитолиза (разрушения клеток) этот фермент попадает в кровь, что выявляется лабораторными методами. Уровень этой трансаминазы может повышаться также при инфаркте миокарда и других состояниях. Снижение активности АЛТ в плазме крови возможно при почечной недостаточности, дефиците пиридоксина (витамина В<sub>6</sub>), во время беременности.

### ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА

Кат. №	Состав набора, мл	Общий объем, мл
DV 772 001	Реагент 1: 2x68 Реагент 2: 2x17	170
DV 772 002	Реагент 1: 6x68 Реагент 2: 6x17	510

### Забор образцов

#### 1. Требования к квалификации персонала.

К выполнению исследований допускаются лица, прошедшие подготовку (лаборанты, ветеринарные фельдшера, ветеринарные врачи, химики и др.) по эксплуатации анализатора и методикам выполнения измерений.

#### 2. Отбор проб.

2.1. Отбор крови проводят утром, до кормления животных и проведения лечебных мероприятий. «Правила взятия патологического материала, крови, кормов и пересылки их для лабораторного исследования» утв. Минсельхоз СССР 24.06.1971.

2.2. Для отбора проб крови применяют стеклянные пробирки многоцветного использования или системы взятия крови (СВК) по ГОСТ ISO 6710-2011.

#### 2.2.1. Правила взятия крови при использовании вакуумных систем:

Обязательное соответствие цвета вакуумной системы и целей исследования.

**Для биохимических исследований используются СВК с красной, желтой или оранжевой крышечкой.**

Каждая пробирка содержит определенное количество реагента для указанного на ней объема крови. Пробирки заполняются в соответствии с указанным уровнем, в пределах  $\pm 10\%$  от указанного объема.

При применении СВК с красной/желтой/оранжевой маркировкой, которые содержат активаторы свертывания с биологически инертным гелем, образующие после центрифугирования барьер, отделяющий сыворотку от форменных элементов крови, что позволяет получать образцы более высокого качества и сократить время коагуляции (указывается производителем в инструкциях по применению СВК).

**Внимание! Неправильное соотношение крови и реагента в пробе ведет к недостоверным результатам анализа.**

Сразу после заполнения пробирку необходимо аккуратно перевернуть 4–10 раз на 180° для смешивания крови с наполнителем. Количество перемешиваний указывается в инструкции по применению. Перемешивание необходимо проводить аккуратно, пробирку не трясти, во избежание коагуляции и гемолиза.

**Внимание! В плохо перемешанной пробе образуются микросгустки, приводящие к искажению результатов анализов, а также к поломкам лабораторных анализаторов.**

### 3. Транспортировка.

Пробирки с кровью плотно закрываются пробками и в строго вертикальном положении в термоконтейнерах с хладагентом перемещаются в лабораторию. Время доставки не должно превышать 24 часа при температуре 2,0–8,0°C.

Следует избегать тряски во избежание разлития гемолиза. Температура ниже 4 °C и выше 30°C может существенно изменить содержание в образце многих анализов.

### 4. Подготовка проб:

#### 4.1. Получение плазмы крови.

Отобранные пробы крови переливают в центрифужные пробирки и центрифугируют 20–30 минут при 2000–3000 об/мин., отделившуюся плазму переносят в чистые сухие пробирки.

При применении СВК допускается центрифугирование непосредственно в первичной пробирке, в соответствии с инструкцией к использованию.

#### 4.2. Получение сыворотки крови.

**Сыворотка крови должна быть отделена от форменных элементов не позднее 1 часа после забора материала.**

Кровь в стеклянных пробирках, в течение часа после забора, обводят тонкой спицей из нержавеющей стали диаметром 1,0–1,5 мм и ставят в термостат при температуре 37–38°C на 30 минут для окончательного отделения сыворотки. Отделившуюся сыворотку переносят в центрифужные пробирки и центрифугируют в течение 20–30 минут при 2000–3000 об/мин.

**Внимание! Исследования не проводятся при:**

- гемолизе, хилезе сыворотки (плазмы) крови (за исключением исследований, на которые наличие гемолиза, хилеза не влияет [6]).
- поступлении в СВК с несоответствующей маркировкой (то есть материал взят не с тем антикоагулянтом, консервантом и др.).
- наличии сгустков в пробах с антикоагулянтом.
- поступлении в СВК с истекшим сроком годности.

### 5. Хранение.

Негемолизованная сыворотка крови.

Стабильность:

3 дня	при 15–25°C
7 дней	при 2–8°C
7 дней	при -20°C

**Загрязненные образцы хранению не подлежат!**

**Замораживать образцы можно не более одного раза!**

### 6. Возможные причины получения недостоверных результатов:

- низкое качество дистиллированной (деионизированной) воды. Для повышения точности калибровки рекомендуется использовать высокоочищенную воду, как для приготовления контрольных сывороток, так и для самой калибровки (нулевая точка).

- недостаточно чистая посуда. Посуду следует мыть хромовой смесью или раствором 4M соляной кислоты в дистиллированной (деионизированной) воде, затем тщательно ополоснуть дистиллированной (деионизированной) водой.

- загрязнение блоков кювет. Рекомендуется регулярно проверять чистоту измерительных кювет с использованием соответствующих утилит анализатора и при необходимости проводить очистку согласно инструкции по эксплуатации на прибор.

- несоблюдение условий хранения и эксплуатации наборов, калибраторов и стандартных сывороток. Рекомендуется заменять реагенты, калибраторы, стандартные сыворотки.

- технические ошибки при программировании методов на автоматических анализаторах. Необходимо проверить соответствие параметров установленной методики с адаптациями производителя к конкретному анализатору.

- ошибки при проведении преаналитического этапа. Необходимо повторно произвести забор крови и выделение сыворотки (плазмы) с соблюдением установленных норм и правил.

- ошибки при приготовлении реагентной смеси, и нарушение соотношения реагент/образец (при работе на полуавтоматических биохимических анализаторах). Необходимо повторить смешивание.

- недостоверные результаты при проведении контроля качества. Необходимо провести калибровку прибора в соответствии с инструкцией по эксплуатации анализатора.



## НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ\*

Образец	Нормальный диапазон, Е/л
Собаки	8,2-57,3
Кошки	8,3-52,5
Лошади	2,7-20,5
Крупный рогатый скот (КРС)	6,9-35,3
Свиньи	21,7-46,5
Овцы	60,0-84,0
Куры	5,0-36,0

\*Рекомендуем в каждой лаборатории уточнять диапазон значений нормальных величин для обследуемых животных, которые могут зависеть от различных факторов

## Возможные причины изменения уровня АЛТ:

### Повышение уровня АЛТ:

- Некроз печени любой этиологии (инфекции, токсическое воздействие, обструкция желчных протоков);
- Рак, цирроз, гипоксия печени, жировой гепатоз;
- Поражение миокарда различной этиологии;
- Острый панкреатит;
- Обширная травма скелетных мышц, тяжёлые ожоги;
- Эндогенное или экзогенное повышение уровня кортикостероидов у собак.

### Понижение уровня АЛТ:

- Обширный некроз и цирроз печени;
- Дефицит пиридоксальфосфата (витамина В<sub>6</sub>).

**ВНИМАНИЕ!** Лабораторное исследование только этого параметра не является достаточным основанием для постановки диагноза, но может быть частью комплексного клинико-терапевтического обследования.

## Собака и кошка

АЛТ	АСТ	КФК	Предварительное заключение
↑	↑	-	Поражение печени
↑	↑	↑	Поражение скелетных мышц

## Лошадь и КРС

АЛТ	АСТ	КФК	Предварительное заключение
-	↑	-	Поражение печени
-	↑	↑	Поражение скелетных мышц и (возможно) печени

## ЛИТЕРАТУРА

1. Boyd J.W. The interpretation of serum biochemistry test results in domestic animals, in Veterinary Clinical Pathology, Veterinary Practice Publishing Co., Vol. XIII, # II, 1984.
2. Кондрахин И.П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики. – М.: 2004.
3. Медведева М. А. Клиническая ветеринарная лабораторная диагностика. – М.: «Аквариум Принт», 2013–416 с.
4. Холод В.М. Справочник по ветеринарной биохимии. – В.: 2005.
5. Guder W.G., Zawta B. et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001.
6. Д. Мейер, Дж. Харви. Ветеринарная лабораторная медицина. Интерпретация и диагностика. Пер. с англ. – М.: Софион. 2007, 456 с.
7. Методические рекомендации по применению наборов реагентов «ДиаВетТест» для биохимических исследований сыворотки (плазмы) крови животных на автоматических и полуавтоматических анализаторах. – М.: ФГБУ ЦНМВЛ, Россельхознадзор, 2018.
8. I.S.I.S., Standard International Units - March 2002.

Рекомендовано Центральной научно-методической ветеринарной лабораторией

