

REF 10205-4 4 X 31 ml / 7 ml

AMINOTRANSFERAZA ALANINOWA (ALT)

Każdy z pojemników zawiera 31 ml odczynnika R1; buteleczka 10 ml zawiera 7 ml odczynnika R2.

ZASTOSOWANIE

Odczynnik ALT EasyRA służy do ilościowego pomiaru aktywności aminotransferazy alaninowej w surowicy i osoczu ludzkim (przy użyciu heparyny litowej jako środka przeciwkrzepliwego) przy wykorzystaniu analizatora MEDICA EasyRA® Clinical Chemistry Analyzer.

Wyłącznie do diagnostycznego stosowania *in vitro*. Wyłącznie do użytku profesjonalnego.

OPIS I OBJAŚNIENIE

Aminotransferaza alaninowa jest enzymem wewnątrzkomórkowym biorącym udział w metabolizmie aminokwasów i węglowodanów i jest uwalniana przy uszkodzeniach tkanek. Pomiary aminotransferazy alaninowej są wykorzystywane w diagnozowaniu i leczeniu niektórych chorób wątroby (takich jak wirusowe zapalenie wątroby i marskość wątroby). W przypadku martwicy wątroby podwyższenie poziomu ALT poprzedza wystąpienie żółtaczki¹.

ZASADY PROCEDURY

Metoda bazuje na procedurach Wróblewskiego i Ladue'a² opartych o oksydację NADH przez dehydrogenazę mleczanową (LDH). Odczynnik opiera się na zmodyfikowanych metodach IFCC³ i Bergmeyer⁴.

ALT

α -ketoglutarat + L-alanina $\rightarrow$ L-glutamat + Pyruvate

LDH

Pyruvate + zredukowany kofaktor + H⁺ $\rightarrow$ mleczan + kofaktor

Prędkość spadku absorbancji roztworu reakcji przy 340 nm na skutek oksydacji zredukowanego kofaktora jest wprost proporcjonalna do aktywności ALT w próbce.

ODCZYNNIKI

Odczynnik buforowy ALT (R1):

L-alanina	500 mmol/l
LDH (mięśnie królicze)	1200 U/l
Bufor Tris, pH 7,5	100 mmol/l

Odczynnik substratu ALT (R2):

α -ketoglutaran	15 mmol/l
NADH, sól dwusodowa	0,18 mmol/l

Składniki nieaktywne:

Bufor, stabilizatory i środek konserwujący.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Podczas używania dowolnego odczynnika laboratoryjnego należy przestrzegać dobrych praktyk bezpieczeństwa. (CLSI, GP17-A2).
2. Odczynniki zawierają mniej niż 0,1% azotku sodu, który może wejść w reakcję z przewodami ołowianymi lub miedzianymi, tworząc azydki metali o silnych właściwościach wybuchowych. Informacje na temat ryzyka, zagrożeń i bezpieczeństwa znajdują się w arkuszu. Dane bezpieczeństwa.
3. Tak jak w przypadku wszystkich procedur diagnostycznych, wyniki powinny zostać zinterpretowane z uwzględnieniem wyników wszelkich innych badań i statusu klinicznego pacjenta.
4. Nie używać mytych kuwet.

INSTRUKCJE DOTYCZĄCE UŻYCIA, PRZECHOWYWANIA I STABILNOŚCI ODCZYNNIKA

Odczynniki R1 i R2 muszą zostać połączone w pojemniku przed użyciem. Nieotwarte odczynniki pozostają stabilne, aż do upływu daty ważności (na etykiecie), jeśli są przechowywane w temp. 2 – 8°C. Odczynnik aktywny pozostaje stabilny w komorze chłodniczej odczynników analizatora EasyRA przez ilość dni zaprogramowaną w module RFID na pojemniku odczynnika. Nie używać odczynnika, jeśli jest mętny lub zanieczyszczony, lub jeśli wskazuje błędne wartości podczas porównania ze znanymi wartościami kontrolnymi.

POBIERANIE I PRZECHOWYWANIE/STABILNOŚĆ PRÓBEK

Do pobierania osocza można wykorzystywać próbki zawierające heparynę litową. Należy używać czystych, niehemolizowanych próbek. ALT zachowuje stabilność w surowicy przez 24 godziny w temperaturze 18 – 25°C i przez 7 dni w temperaturze 2 – 8°C⁵.

Ograniczenia i interferencja dodatkowych substancji w przewodach zbiorczych

Należy koniecznie unikać hemolizy, gdyż stężenie ALT w czerwonych krwinkach jest ok. 3–5 większe, niż w surowicy⁶.

PROCEDURA

Dostarczone materiały

Pojemnik/butelka z R2 odczynnika Medica ALT (Medica ALT Reagent Wedge/R2 Bottle), NR REF. 10205

Wymagane materiały dodatkowe

Medica EasyQC® Chemistry/Electrolytes – Poziom A, NR REF 10793

Medica EasyQC Chemistry/Electrolytes – Poziom B, NR REF 10794

Pojemnik z barwnikiem do testu precyzji Medica (Medica Precision Test Dye Wedge), NR REF. 10764

Pojemnik ze środkiem czyszczącym Medica (Medica Cleaner Wedge – Chemistry & ISE Wedge), NR REF. 10660 *lub*

Pojemnik ze środkiem czyszczącym Medica (Medica Cleaner Wedge – Chemistry), NR REF. 10661

Sposób użycia

Odczynniki R1 i R2 muszą zostać połączone w pojemniku przed użyciem. Odczynnik R1 znajduje się w pojemniku. Dodać całą zawartość buteleczki zawierającej odczynnik R2 do pojemnika i dobrze wymieszać przez inwersję przed użyciem. Po wymieszaniu powstanie łącznie 38 ml aktywnego odczynnika. Zdjąć korek z aktywnego odczynnika i umieścić odczynnik na tacy odczynników analizatora EasyRA znajdującej się na obszarze odczynników. Stabilność podczas przechowywania w systemie (maksymalnie 44 dni) programowana jest w układzie RFID na pojemniku odczynnika.

Uwaga: Przed umieszczeniem pojemnika w analizatorze sprawdzić, czy po zdjęciu korka wewnątrz szyjki pojemnika nie wytworzyła się piana. Jeśli pojawiła się piana, usunąć ją wacikiem lub jednorazową pipetką przed przeprowadzeniem badania.

Kalibracja

Nie dotyczy.

Kontrola jakości

Zaleca się przeprowadzanie kontroli jakości badania surowicy ludzkiej na dwóch poziomach (normalnym i abnormalnym) codziennie przy każdym badaniu pacjenta oraz po każdorazowej zmianie partii odczynników. Problemy z uzyskaniem odpowiedniego zakresu wartości podczas oznaczania materiału kontrolnego mogą wskazywać na degradację odczynnika, usterkę instrumentu lub błędy proceduralne. Podczas korzystania z materiałów kontroli jakości w laboratorium należy stosować lokalne, stanowe i federalne wytyczne kontroli jakości.

Wyniki

Po zakończeniu oznaczania analizator EasyRA oblicza stężenie ALT na podstawie zanotowanej zmiany absorbancji na minutę, objętości próbki, całkowitej objętości reakcji, długości ścieżki (cm) równej 0,6 i absorpcyjności molowej równej 6,22.

$$\text{ALT (U/l)} = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{Całkowita objętość}(\mu\text{l}) \times 1000)}{(\text{Absorpcyjność molowa} \times \text{Długość ścieżki}(\text{cm}) \times \text{Objętość próbki}(\mu\text{l}))}$$

PRZEWIDYWANE WARTOŚCI⁵

Zakres referencyjny dla ALT w surowicy jest następujący:

Dorosły mężczyzna:	10-40 U/l
Dorośła kobieta:	7-35 U/l
Noworodek:	13-45 U/l

Wartości te stanowią wytyczne. Zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło własny zakres wartości przewidywanych, gdyż istnieją różnice pomiędzy instrumentami, laboratoriami oraz mieszkańcami różnych regionów.

Ograniczenia proceduralne (np. w przypadku wykroczenia próbki poza zakres oznaczania)

Należy używać wyłącznie próbek surowicy niehemolizowanej.

Jeśli zmiana absorpcji na minutę ($\Delta A/\text{Min}$) przekracza 0,032, co odpowiada 500 U/l, analizator oznaczy wyniki jako „SD” (wyczerpanie substratu). W przypadku wybrania ikony „Re-run” (Uruchom ponownie), próbka może zostać ponownie zbadana przy użyciu połowy (1/2) objętości próbki. Wyniki ponownej analizy zostają obliczone z uwzględnieniem zmniejszonej objętości próbki. Spowoduje to rozszerzenie raportowanego zakresu oznaczania ALT do 1000 U/l.

CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCI⁷

Zakres raportowany

Raportowany zakres wynosi od 5,0 do 500 U/l. Zakres rozszerzony wynosi od 5,0 do 1000 U/l przy użyciu połowy próbki (roztwór 1:1).

Niedokładność/korelacja (CLSI, EP9-A2)

Poniższa tabela zawiera wyniki porównania nowego odczynnika aminotransferazy alaninowej Medica (Medica Reagent for ALT) (y) w analizatorze EasyRA (y) z poprzednim odczynnikiem ALT (x) w analizatorze EasyRA. Przedstawione dane to wyniki dla pojedynczych oznaczeń wykonanych przy użyciu nowego odczynnika ALT Medica na analizatorze EasyRA w porównaniu ze średnią z dwóch powielanych wartości uzyskanych dla poprzedniego odczynnika ALT Medica na analizatorze EasyRA.

Ilość próbek	80	Zakres próbek	11,5 do 455,1 U/l
Nachylenie	1,0239	Wychwytywanie y	-0,8187
Współczynnik korelacji	0,9996	Równanie regresji	$Y = 1,0239 \cdot X - 0,8187$

Poniższa tabela zawiera wyniki porównania odpowiadających sobie próbek surowicy (x) i osocza (y) przy wykorzystaniu odczynnika ALT Medica w analizatorze chemicznym Medica EasyRA. Poniższe dane to wyniki dla pojedynczego oznaczenia osocza w porównaniu ze średnią wyznaczoną dla dwóch powielanych wartości surowicy.

Ilość próbek	60	Zakres próbek	7,6 do 449,3 U/l
Nachylenie	1,0027	Wychwytywanie y	-0,4762
Współczynnik korelacji	0,9992	Równanie regresji	$Y = 1,0027 \cdot X - 0,4762$

Niedokładność (CLSI, EP5-A2)

Podwójne pomiary każdego z trzech poziomów materiałów do kontroli jakości były testowane dwa razy dziennie przez 20 dni. Dane te posłużyły do ustalenia zarówno dokładności wewnątrz przebiegu, jak i całkowitej.

Niedokładność wewnątrz przebiegu:

Poz. kontr. jakości U/l	SD wewn. przebiegu U/l	CV wewn. przebiegu %
205,2	1,91	0,93
90,7	1,52	1,68
27,4	0,75	2,72

Niedokładność całkowita:

Poz. kontr. jakości U/l	SD niedokł. całkowita U/l	CV niedokł. całkowita %
205,2	3,02	1,47
90,7	1,95	2,16
27,4	1,00	3,65

Liniowość (CLSI, EP6-A)

Liniowe od 5,0 do 500 U/l, na podstawie równania regresji liniowej $Y = 0,998 \cdot X + 1,2333$.

Granica próby ślepej (LoB):	2,4 U/L	(NCCLS, EP17-A)
Granica wykrywalności (LOD):	4,2 U/L	(NCCLS, EP17-A)

Interferencja (NCCLS, EP7-A)

Interferencja poniżej 10% została sklasyfikowana jako „brak znaczącej interferencji”.

Zanotowano znaczną interferencję z hemolizą. Należy koniecznie unikać hemolizy, gdyż stężenie ALT w czerwonych krwinkach jest ok. 5 razy większe, niż w surowicy. Nie używać próbek hemolizowanych.

Brak znaczącej interferencji zanotowano dla bilirubiny na poziomie poniżej 28 mg/dl.

Nie odnotowano znaczącej interferencji dla trójglicerydów na poziomie poniżej 1500 mg/dl (przy wykorzystaniu środka Intralipid*).

*Intralipid jest zarejestrowanym znakiem towarowym Pharmacia AB, Clayton, NC.

Young przedstawia listę leków i innych substancji będących przyczyną interferencji w klinicznych testach chemicznych^{8,9}.

LITERATURA

- 1 Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Co.; 1994: 790-791.
- 2 Wroblewski, F. and LaDue, J.S., Proc. Soc. Exper. Biol. And Med. 91:569 (1956).
- 3 International Federation of Clinical Chemistry, Provisional Concentrations of Enzymes, Clin Chem 23: 887, 1977.
- 4 Bergmeyer HU, Scheibe P, Wahlefeld, AW: Optimization of methods for aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase. Clin Chem 24: 58, 1978.
- 5 Burtis, C.A., Ashwood, E.R. (Ed.) *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, W.B. Saunders Co. Toronto, p 1800 (1999).
- 6 Henry R.J. *Clinical Chemistry-Principles and Technics*. New York, NY: Harper & Row; 1974: 881, 888.
- 7 Dane własne Medica Corporation.
- 8 Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4th ed. Washington, DC: AACC Press, 1995.
- 9 Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC. AACC Press, 1997.

Parametry oznaczania EasyRA (ALT)

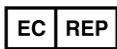
Długość fali (nm)	340/405 nm
Typ reakcji	Enzymatyczna (0)
Kierunek odczynnika	Malejący
Odczynnik ślepy	Nie
Próba ślepa	Nie
Maks. zmiana abs. w pierwszym okr.	0,032
Czas reakcji	5,6 min.
Odstęp między kalibracjami (maksymalny)	Nie dotyczy
Stabilność odczynnika w systemie	44 dni

Surowica/osocze

Obj. próbki (μl)	8,0
Obj. rozcieńczalnika (μl)	32
Obj. odczynnika (μl)	152
Miejsca po przecinku (domyślnie)	1
Jednostki (wartości domyślne)	U/l
Współczynnik rozcieńczenia	1:1 (w celu rozszerzenia zakresu pomiaru)
Liniiowość	od 5,0 do 500 U/l
Absorpcyjność molowa	6,22



Medica Corporation, 5 Oak Park Drive
Bedford, MA 01730-1413 USA



Emergo Europe, Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague, The Netherlands