

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 przeciwkrzepiwego) 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 żółtaczki<sup>1</sup>.

### ZASADY PROCEDURY

Metoda bazuje na procedurach Wróblewskiego i Ladue'a<sup>2</sup> opartych o oksydację NADH przez dehydrogenazę mleczanową (LDH). Odczynnik opiera się na zmodyfikowanych metodach IFCC<sup>3</sup> i Bergmeyera<sup>4</sup>.

ALT

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

LDH

$\text{Pyruvate} + \text{zredukowany kofaktor} + \text{H}^+ \rightarrow \text{mleczan} + \text{kofaktor}$

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 (mikroorganizm)	1200 U/l
Bufor Tris, pH 7,5	100 mmol/l

#### Odczynnik substratu ALT (R2):

$\alpha$ -ketoglutaran	15 mmol/l
NADH, sól dwusodowa	0,18 mmol/l

#### Składniki nieaktywne:

Bufory, 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 upłynięcia 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°C<sup>5</sup>.

### 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 surowicy<sup>6</sup>.

## 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 WARTOŚCI<sup>5</sup>

Zakres referencyjny dla ALT w surowicy jest następujący:

Dorosły mężczyzna:	10-40 U/l
Dorośla 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 WYDAJNOŚCI<sup>7</sup>

### 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	$Y = 1,0239 * X - 0,8187$

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	$Y = 1,0027 * X - 0,4762$

### 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  $Y = 0,998 * X + 1,2333$ .

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<sup>8,9</sup>.

## LITERATURA

- 1 Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2<sup>nd</sup> 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 aminotrasferase. 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 Preatalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2<sup>nd</sup> ed. Washington, DC. AACC Press, 1997.

## Parametry oznaczania EasyRA (ALT)

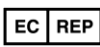
Długość fali (nm)	340/405 nm
Typ reakcji	Enzymatyczna (0)
Kierunek odczynnika	Malejący
Odczynnik ślepy	Nie
Próba ślepa	Nie
Maks. zmiana abs. w pierwszym okr.	0,032
Czas reakcji	5,6 min.
Odstęp między kalibracjami (maksymalny)	Nie dotyczy
Stabilność odczynnika w systemie	44 dni

## 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, Massachusetts 01730-1413 USA



Emergo Europe, Westervoortsedijk 60  
6827 AT Arnhem, The Netherlands