

REF 10205-4 4 x 31 мл/7 мл

АЛАНИН АМИНОТРАНСФЕРАЗА (АЛТ)

Каждый контейнер содержит полезный объем из 31 мл реагента R1. Бутылка объемом 10 мл содержит 7 мл реагента R2.

НАЗНАЧЕНИЕ

Реагент АЛТ EasyRA предназначен для количественного определения активности аланин аминотрансферазы в человеческой сыворотке и плазме (с литий-гепарином в качестве антикоагулянта) с помощью клинического биохимического анализатора MEDICA EasyRA®.

Только для диагностического применения *in-vitro*. Только для профессионального использования.

КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ И ОБОСНОВАНИЕ

Аланин аминотрансфераза является внутриклеточным ферментом, участвующим в метаболизме аминокислот и углеводов и высвобождающимся при повреждении тканей. Измерения аланин аминотрансферазы используются в диагностике и лечении некоторых заболеваний печени (например, вирусного гепатита и цирроза). При печёночном некрозе повышение уровня АЛТ отмечается до появления желтухи¹.

ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ

Этот метод основан на процедурах Wroblewski и Ladue², основанных на окислении NADH лактат дегидрогеназой (ЛДГ). Реагент основан на модификациях методов IFCC³ и Bergmeyer⁴.

АЛТ

α -кетоглутарат + L-аланин \rightarrow L-глутамат + пируват

ЛДГ

Пируват + восстановленный кофактор + H⁺ \rightarrow лактат + кофактор

Уровень снижения оптической плотности реакционной смеси при 340 нм прямо пропорционален активности АЛТ в пробе благодаря окислению восстановленного кофактора.

РЕАГЕНТЫ

Буферный реагент АЛТ (R1):

L-аланин	500 ммоль/л
ЛДГ (микроорганизм)	1200 ед/л
Tris буфер, pH 7,5	100 ммоль/л

Субстратный реагент АЛТ (R2):

α -кетоглутарат	15 ммоль/л
NADH, двунатриевая соль	0,18 ммоль/л

Нереактивные ингредиенты:

Буферы, стабилизаторы и консервант.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. При работе с любыми лабораторными реактивами должны соблюдаться стандарты безопасности надлежащей лабораторной практики. (CLSI, GP17-A2).
2. Реактивы содержат менее 0,1% азиды натрия, который может вступать в реакцию со свинцовыми и медными участками трубопровода с образованием взрывоопасных азидов металлов. Обратитесь к Спецификации по Безопасности для получения информации по риску, потенциальной опасности и безопасности.
3. Как и при любой диагностической процедуре, результаты должны интерпретироваться только в совокупности с результатами всех остальных анализов и клинического обследования пациента.
4. Не используйте вымытые пробирки.

ИНСТРУКЦИИ ПО ОБРАЩЕНИЮ, ХРАНЕНИЮ И СТАБИЛЬНОСТИ

Реагенты R1 и R2 перед использованием следует смешать в контейнере. Нераспечатанный реагент стабилен до даты истечения срока годности на этикетке при температуре хранения 2—8°C. Рабочий реагент стабилен внутри охлажденной камеры для реагентов анализатора EasyRA в течение срока, запрограммированного на чипе радиочастотной идентификации (RFID) на контейнере реагента. Не используйте реагент если он мутнен или непрозрачен, или если в сыворотке не удалось определить известные контрольные значения.

ОТБОР ОБРАЗЦОВ И ХРАНЕНИЕ/СТАБИЛЬНОСТЬ

Для отбора плазмы можно использовать пробирки, покрытые литий-гепарином. Следует использовать прозрачные образцы без признаков гемолиза. Сывороточная АЛТ стабильна в течение 24 часов при 18—25°C и 7 дней при 2—8°C⁵.

Ограничения и добавки трубки интерферирующего накопления

Следует избегать гемолиза, так как концентрация АЛТ в эритроцитах примерно в 3-5 раз отличается от таковой в сыворотке⁶.

ПРОЦЕДУРА

Предоставляемые материалы

Medica АЛТ реагент Контейнер/флакон с R2, REF 10205

Необходимые дополнительные материалы

Medica EasyQC Chemistry/Electrolytes – Уровень А, REF 10793

Medica EasyQC Chemistry/Electrolytes – Уровень В, REF 10794

Контейнер красителя для точного анализа Medica, REF 10764

Контейнер Medica Cleaner – Chemistry & ISE, REF 10660 *или*

Контейнер Medica Cleaner – Chemistry, REF 10661

Инструкции по применению

Реагенты R1 и R2 перед использованием следует смешать в контейнере. Реагент R1 находится в контейнере. Добавьте всё содержимое маленькой бутылки, содержащей реагент R2, в контейнер и перемешайте при помощи потряхивания перед использованием. После смешивания всего получится 38 мл годного к использованию рабочего реагента. Удалите колпачок с рабочего реагента и поместите реактив в отделение для реагентов анализатора EasyRA, расположенное в зоне для реагентов. Автономная стабильность (максимум 44 дня) рабочего реагента запрограммирована в чипе RFID на контейнере реагента.

Примечание: проверьте внутреннюю поверхность горловины контейнера на наличие пены после удаления крышки и помещения контейнера в анализатор. При наличии пены удалите ее тампоном или одноразовой пипеткой до проведения исследования.

Калибровка

Не применяется.

Контроль Качества

Рекомендуется проведение двух уровней контроля анализа на основе человеческой сыворотки (нормальный и аномальный) ежедневно при любом заборе образцов у пациентов и при каждой смене набора реагентов. Отсутствие верного спектра значений при анализе контрольного материала может указывать на нарушение свойств реагента, нарушение работы оборудования, или ошибки в процедуре. При использовании калибраторов лаборатория должна соблюдать указания по контролю качества местных и федеральных властей, а также властей штата.

Результаты

После завершения анализа анализатор EasyRA рассчитывает концентрацию АЛТ по изменению оптической плотности в минуту, объёму образца, общему объёму реакции, длине пути (см), равной 0,6, и молярной абсорбирующей способности, равной 6,22.

$$\text{АЛТ (ед/л)} = (\Delta A/\text{мин}) \times \frac{(\text{общий объем (мкл)} \times 1000)}{(\text{молярная абсорбирующая способность} \times \text{длина пути (см)} \times \text{объем образца (мкл)})}$$

Ожидаемые Значения⁵

Референсный спектр значений АЛТ в сыворотке следующий:

Взрослый мужчина:	10-40 ед/л
Взрослая женщина:	7-35 ед/л
Новорожденный:	13-45 ед/л

Эти значения предлагаются в качестве нормы. Из-за существующих различий между приборами, лабораториями и местным населением в каждой лаборатории рекомендуется провести установление собственного диапазона ожидаемых значений.

Ограничения Процедуры (например, если образец выходит за пределы диапазона метода)

Могут использоваться только негемолизированные образцы сыворотки.

Если изменение оптической плотности в минуту (ДА/мин) больше, чем 0,032, что соответствует 500 ед/л, в результате будет виден сигнал «SD» (истощение субстрата). Если оператор выбирает значок «Re-run», образец можно повторно анализировать, используя половину (1/2) его объема. Результаты повторного анализа рассчитываются для отображения анализа меньшего объема образца. Данная процедура позволяет эффективно увеличить регистрируемый диапазон. Если оператор выбирает значок «Re-run», образец можно повторно анализировать, используя половину (1/2) его объема. Результаты повторного анализа рассчитываются для отображения анализа меньшего объема образца. Данная процедура позволяет увеличить регистрируемый диапазон анализа АЛТ до 1000 Ед/л.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ⁷

Регистрируемый диапазон

Регистрируемый диапазон составляет 5,0—500 ед/л. Растянутый диапазон составляет 5,0—1000 ед/л, если используется половина объема образца сыворотки (раствор 1:1).

Погрешность/Корреляция (CLSI, EP9-A2)

В следующей таблице приведены данные, полученные при сравнении нового реагента Medica для АЛТ (y) в анализаторе EasyRA с характеристиками предыдущего реагента для АЛТ (x) в анализаторе EasyRA. Приведенные ниже данные являются показателями однократных измерений, полученных с новым реагентом Medica для АЛТ в анализаторе EasyRA против среднего от двух повторных значений, полученных с предыдущим реагентом Medica для АЛТ в анализаторе EasyRA.

Количество образцов	80	Размах выборки	от 11,5 до 455,1 ед/л
Угловой коэффициент	1,0239	Отрезок, отсекаемый на оси y	-0,8187
Коэффициент корреляции	0,9996	Уравнение регрессии	$Y = 1,0239 * X - 0,8187$

В следующей таблице приведены данные, полученные в сравнении парных образцов сыворотки (x) и плазмы (y) с использованием реагента Medica для АЛТ в биохимическом анализаторе Medica EasyRA. Приведенные ниже данные являются показателями однократного измерения плазмы в сравнении со средним двух повторных значений сыворотки.

Количество образцов	60	Размах выборки	от 7,6 до 449,3 ед/л
Угловой коэффициент	1,0027	Отрезок, отсекаемый на оси y	-0,4762
Коэффициент корреляции	0,9992	Уравнение регрессии	$Y = 1,0027 * X - 0,4762$

Расхождение результатов (CLSI, EP5-A2)

Повторные измерения каждого из трех уровней калибровочного (QC) материала проводились дважды в день в течение 20 дней. Из этих данных определялись точность внутри ряда измерений и общая точность.

Погрешность внутри ряда измерений:

Уровень QC ед/л	СО внутри ряда измерений ед/л	КВ внутри ряда измерений %
205,2	1,91	0,93
90,7	1,52	1,68
27,4	0,75	2,72

Общее расхождение результатов:

Уровень QC ед/л	СО общего расхождения результатов: ед/л	КВ общего расхождения результатов: %
205,2	3,02	1,47
90,7	1,95	2,16
27,4	1,00	3,65

Линейность (CLSI, EP6-A)

Линейные от 5,0 до 500 ед/л, основываясь на уравнении линейной регрессии $Y = 0,998 * X + 1,2333$.

Предел измерения параметров контрольного образца: 2.4 ед/л (NCCLS, EP17-A)
Предел обнаружения: 4.2 ед/л (NCCLS, EP17-A)

Вещества, создающие помехи (NCCLS, EP7-A)

Менее 10% интерференции классифицировалось как «отсутствие значимой интерференции».

Это значимая помеха, связанная с гемолизом. Следует избегать гемолиза, так как концентрация АЛТ в эритроцитах примерно в 5 раз отличается от таковой в сыворотке. Не используйте пробы, в которых присутствует гемолиз.

Отсутствие значимой интерференции было найдено для значений билирубина до 28 мг/дл.

Отсутствие значимой интерференции было найдено для значений триглицеридов до 1500 мг/дл (с использованием Intralipid*).

*Intralipid — зарегистрированный товарный знак компании Pharmacia AB, Clayton, NC.

Юнг приводит список лекарственных средств и других веществ, которые создают помехи при клинических лабораторных исследованиях^{8,9}.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed.* Philadelphia, PA: Saunders Company; 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 Данные из архива Medica.
- 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.

Параметры анализа EasyRA (АЛТ)

Длина волны (нм)	340/405 нм
Тип реакции	Фермент (0)
Направление изменения реагента	Уменьшение
Пустой реагент	Нет
Пустой Образец	Нет
Максимальный первый интервал. Отсутствие изменения	0,032
Время реакции	5,6 мин.
Периодичность калибровок (максимальная)	Нет данных
Автономная стабильность реагента	44 дня

Сыворотка/плазма

Объем образца (мкл)	8,0
Объем растворителя (мкл)	32
Объем реактива (мкл)	152
Разделители десятичных дробей	1
Единицы (по умолчанию)	ед/л
Фактор разведения	1:1 (для расширения спектра измерения)
Линейность	от 5,0 до 500 ед/л
Молярная абсорбирующая способность	6,22