

Προβλεπόμενη χρήση

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό της αμινοτρανσφεράσης της αλανίνης (ALT) σε ορό με τη χρήση των αναλυτών Yumizen C230 και Yumizen C240. **Rx Only.**

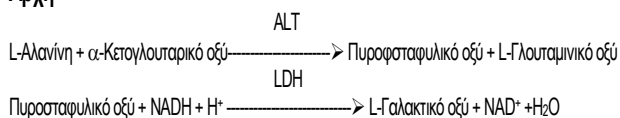
Κλινική σημαντικότητα

Η ALT κατανέμεται ευρέως σε ιστούς, με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις να παρατηρούνται στο ήπαρ και στους νεφρούς. Παρόλα αυτά, η ALT θεωρείται περισσότερο ειδική για το ήπαρ σε σχέση με την AST. Αυξημένα επίπεδα ALT συχνά παρατηρούνται μόνο σε ηπατικές νόσους, όπως κίρρωση, ηπατίτιδα ή μεταστατικό καρκίνωμα. Ωστόσο, ενδέχεται να παρατηρούνται αυξημένα επίπεδα της ALT σε περιπτώσεις λοιμώδους μονοπυρήνωσης, μυϊκής δυστροφίας και δερματομυοσίτιδας.¹

Ιστορικό μεθόδου

Οι μέθοδοι UV για τον προσδιορισμό της ALT περιγράφηκαν από τον Henley² το 1955 και από τους Wroblewski και La Due³ το 1956. Η διαδικασία βελτιώθηκε και βελτιστοποιήθηκε από τους Henry κ.α.⁴ το 1960. Το 1974, η Σκανδιναβική Εταιρεία Κλινικής Χημείας (Scandinavian Society for Clinical Chemistry)⁵ συνέστησε βελτιστοποιημένες συνθήκες αντίδρασης. Η Διεθνής Ένωση Κλινικής Χημείας (International Federation of Clinical Chemistry (IFCC))⁶ δημοσίευσε μια πρόταση συνιστώμενης μεθόδου το 1980 με τη χρήση της συζευγμένης δοκιμασίας προσδιορισμού LDH-NADH. Η διαδικασία που περιγράφεται στο παρόν βασίζεται σε αυτήν τη μέθοδο.

Αρχή



Η ALT καταλύει τη μεταφορά της αμινομάδας από την L-αλανίνη στο α-κετογλουταρικό οξύ, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό πυροσταφυλικού και L-γλουταμινικού οξέος. Η γαλακτική αφυδρογονάση καταλύει την αναγωγή του πυροσταφυλικού οξέος και την ταυτόχρονη οξείδωση του NADH σε NAD. Το ποσοστό μείωσης της απορρόφησης που προκύπτει είναι ευθέως ανάλογο με τη δραστηριότητα της ALT.

Αντιδραστήρια

Μετά τον συνδυασμό των αντιδραστηρίων R1 και R2, το αντιδραστήριο περιέχει: L-αλανίνη >450 mM, α-κετογλουταρικό οξύ >14 mM, LDH(μικροβιακή) >2000 IU/L, NADH >0,18 mM, ρυθμιστικό διάλυμα, αζίδιο του νατρίου 0,28%, σταθεροποιητές.

Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Τα αντιδραστήρια είναι έτοιμα για χρήση.

Αποθήκευση αντιδραστηρίων

Φυλάσσετε τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία 2 – 8°C. Το αντιδραστήριο παραμένει σταθερό μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα, εφόσον φυλάσσεται σύμφωνα με τις οδηγίες.

Αλλοίωση αντιδραστηρίου

Μην χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο εάν:

1. Η αρχική απορρόφηση στα 340 nm είναι μικρότερη από 0,800.
2. Το αντιδραστήριο δεν πληροί τις αναφερόμενες παραμέτρους απόδοσης.

Προφυλάξεις

1. Αυτό το σετ αντιδραστηρίων προορίζεται μόνο για *in vitro* διαγνωστική χρήση.
2. Το αντιδραστήριο περιέχει αζίδιο του νατρίου (0,28%) ως συντηρητικό. Απαγορεύεται η κατάποση. Μπορεί να αντιδράσει με τον μόλυβδο και τον χαλκό των υδραυλικών σωληνώσεων, σχηματίζοντας εξαιρετικά εκρηκτικά αζίδια μετάλλου. Κατά την απόρριψη, ξεπλύνετε με μεγάλη ποσότητα νερού ώστε να αποτραπεί η συσσώρευση αζιδίου.

Συλλογή και αποθήκευση δειγμάτων

1. Τα αιμολυμένα δείγματα δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν, καθώς τα ερυθρά αιμοσφαίρια περιέχουν ALT.⁷
2. Η ALT σε ορό παραμένει σταθερή για τρεις ημέρες σε θερμοκρασία δωματίου (15 – 30°C), για επτά ημέρες όταν φυλάσσεται σε ψυγείο (2 – 8°C) και για τριάντα ημέρες όταν καταψύχεται (-20°C).⁷

Αλληλεπιδράσεις

1. Ορισμένα φάρμακα και ουσίες επηρεάζουν τη δραστηριότητα της ALT. Βλ. Young, et al.⁸
2. Η χολερυθρίνη σε τουλάχιστον 30 mg/dL και η αιμοσφαιρίνη σε τουλάχιστον 400 mg/dL καταδείχθηκε ότι έχουν αμελητέα επίδραση σε αυτήν τη διαδικασία.

Παρεχόμενα υλικά

Αντιδραστήρια ALT (SGPT) R1 και R2

Απαιτούμενα υλικά που δεν παρέχονται

1. Αναλυτής Yumizen C230/Yumizen C240
2. Yumizen C230/Yumizen C240
3. Chemistry control, αριθμός καταλόγου C7592-100

Παράμετροι εξέτασης

Εξέταση:	ALT	Χημικό στοιχείο:	ALT
Χημικός αρ.:	202	Πλήρης ονομασία:	ALT
Τύπος αντίδρασης:	Κινητική	Κατεύθυνση αντίδρασης:	Αριθμητική
Πρωτ. κύμα:	340 nm	Δευτ. κύμα:	405 nm
Δεκαδικό:	0	Τύπος δείγματος:	Ορός
Χρόνος τυφλού:		Χρόνος αντίδρασης:	3 11
Μονάδα:	U/L	Χρόνος επίτασης:	3

	Όγκος δείγματος	Αναρροφήθηκε	Αραιωτικό	Όγκος αντιδραστηρίου	Αραιωτικό
Πρότυπο,	9	uL	uL	R1: 180	uL
Μείωση,		uL	uL	R2: 45	uL
Αυξημένο,		uL	uL		uL

Εύρος γραμμικότητας (Πρότυπο),	0-300	Όριο γραμμικότητας:	0.3
Εύρος γραμμικότητας (Μειωμένο):		Μείωση υποστράγγματος:	5000
Εύρος γραμμικότητας (Αυξημένο):		Μικτή απορρόφηση τυφλού:	-40000 40000
Απορρόφηση τυφλού R1:	-40000 40000	Σταθερότητα επί του συστήματος:	30 Ημέρες
Απόκλιση τυφλού	-40000 40000	Όριο συναγερού αντιδραστηρίου:	5
Διπλές γημείες:			

Έλεγχος προζώνης:			
Q1:		Q2:	Q3:
Q4:		PC:	ABS:

Χρήση ποσοτικού αποτελέσματος:		
Εύρος:		Επισήμανση:

Μετατόπιση κλίσης:			
Κλίση	1	Μετατόπιση	0
		Μονάδα	U/L

Προεργασία:			
Προεργασία όγκου δείγματος:	uL	Προεργασία όγκου αντιδραστηρίου:	uL

Εύρος αναφοράς:			
Τύπος δείγματος:	Φύλο:	Εύρος ηλικίας:	Εύρος αναφοράς:
			Κρίσιμο εύρος: Μονάδα:

Παράμετροι ρύθμισης βαθμονόμησης

Χημ.:	ALT			
Ρύθμιση βαθμονόμησης				
Μαθηματικό μοντέλο:	Παράγοντας K			
Συντελεστής:	4700,000	Επαναλήψεις:	2	
Αποδεκτά όρια				
Χρόνος βαθμ.:	24 ώρες			
Διαφ. κλίσης:	SD:			
Ευσαισθησία:	Επαναληψιμότητα			
Συντ. προσδ.:				* Ορίζεται από τον χρήστη
Αυτόματη βαθμ.:	<input type="checkbox"/> Χρόνος βαθμ.			

Σετ αντιδραστηρίων Pointe ALT (SGPT)

Περιορισμοί

- Τα θολερά ή εξαιρετικά ικτερικά δείγματα ενδέχεται να δώσουν τιμές των οποίων η αρχική απορρόφηση υπερβαίνει τις δυνατότητες του φασματοφωτόμετρου. Αποτελέσματα μεγαλύτερης ακριβείας μπορούν να ληφθούν με τη χρήση 0,05 mL (50 uL) δείγματος και πολλαπλασιάζοντας το τελικό αποτέλεσμα επί δύο.
- Τα δείγματα με τιμές πάνω από 500 IU/L πρέπει να αραιώνονται με φυσιολογικό ορό σε αναλογία 1:1, να υποβάλλονται σε εκ νέου σε δοκιμασία προσδιορισμού και τα αποτελέσματα να πολλαπλασιάζονται επί δύο.

Βαθμονόμηση

Η διαδικασία τυποποιείται μέσω της χλίσσομοριακής απορροφητικότητας του NADH που ορίζεται ως 6,22 στα 340 nm υπό τις συνθήκες εξέτασης που περιγράφονται.

Υπολογισμός (Παράδειγμα)

Μία διεθνής μονάδα (IU/L) ορίζεται ως η ποσότητα του ενζύμου που καταλύει τη μεταβολή ενός μικρομορίου (micromole) υποστρώματος ανά λεπτό υπό καθορισμένες συνθήκες.

$$ALT \text{ (IU/L)} = \frac{\Delta Abs./Min. \times 1,10 \times 1000}{6,22 \times 0,10 \times 1,0} = \Delta Abs./min. \times 1768$$

Όπου $\Delta Abs./Min.$ = Μέση μεταβολή απορρόφησης ανά λεπτό
1000 = Μετατροπή IU/mL σε IU/L
1,10 = Συνολικός όγκος αντίδρασης (mL)
6,22 = Χλίσσομοριακή απορροφητικότητα του NADH
0,10 = Όγκος δείγματος (mL)
1,0 = Διαδρομή φωτός σε cm

Παράδειγμα: Εάν η μέση μεταβολή απορρόφησης ανά λεπτό = 0,12, τότε $0,12 \times 1768 = 212$ IU/L

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Σε περίπτωση μεταβολής των παραμέτρων εξέτασης, ο παράγοντας πρέπει να επανυπολογιστεί με τη χρήση του παραπάνω τύπου.

Μονάδες SI: Η μετατροπή των μονάδων SI (nkat/L) γίνεται με τον πολλαπλασιασμό των IU/L επί 16,67.

Ποιοτικός έλεγχος

Η εγκυρότητα της αντίδρασης πρέπει να παρακολουθείται με τη χρήση ορών μάρτυρα με γνωστές φυσιολογικές και μη φυσιολογικές τιμές ALT(SGPT). Αυτοί οι μάρτυρες πρέπει να υποβάλλονται σε ανάλυση τουλάχιστον σε κάθε βάρδια στην οποία διενεργούνται δοκιμές προσδιορισμού ALT (SGPT). Συνιστάται κάθε εργαστήριο να καθορίζει τη δική του συχνότητα προσδιορισμού με μάρτυρες. Πρέπει να καθιερωθούν απαιτήσεις ποιοτικού ελέγχου σε συμμόρφωση με τους τοπικούς, κρατικούς, ή και ομοσπονδιακούς κανονισμούς ή τις απαιτήσεις πιστοποίησης.

Αναμενόμενες τιμές⁹

4 έως 24 IU/L (30°C)

4 έως 36 IU/L (37°C)

Καθώς οι αναμενόμενες τιμές επηρεάζονται από την ηλικία, το φύλο, τη διατροφή και τη γεωγραφική θέση, συνιστάται ιδιαίτερα κάθε εργαστήριο να καθορίζει το δικό του εύρος τιμών για αυτήν τη διαδικασία.

Επίδοση

- Γραμμικότητα: 0 – 500 IU/L
- Σύγκριση: Σε μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε μεταξύ των αναλυτών της σειράς Yumizen 200 και παρόμοιου αναλυτή με τη χρήση αυτής της μεθόδου, προέκυψε συντελεστής συσχέτισης 0,999 και εξίσωση παλινδρόμησης $y = 0,94x + 5,8$. (n=33).
- Πιστότητα: Οι μελέτες ακριβείας εκτελέστηκαν με τη χρήση αναλυτή της σειράς Yumizen 200 βάσει μιας τροποποίησης των κατευθυντηρίων οδηγιών που περιέχονται στο έγγραφο EP5-T2 της NCCLS.¹⁰

Εντός της ανάλυσης (n=20)

Μέση τιμή	S.D.	C.V.%
35,4	1,3	3,6
89,5	1,1	1,3

Ημερησίως (n=20)

Μέση τιμή	S.D.	C.V.%
41,8	1,5	3,6
111,9	2,6	2,3

- Ευσαιθησία: Η ευαισθησία για αυτό το αντιδραστήριο διερευνήθηκε με μέτρηση της μεταβολής στην απορρόφηση στα 340 nm για ένα δείγμα φυσιολογικού ορού και για ορούς με γνωστές συγκεντρώσεις. Εκτελέστηκαν τρεις επαναλήψεις. Τα αποτελέσματα αυτής της έρευνας κατέδειξαν ότι, στον αναλυτή που χρησιμοποιήθηκε, το αντιδραστήριο ALT (SGPT) παρουσίασε μικρή ή καθόλου απόκλιση του αντιδραστηρίου σε μηδενικό δείγμα. Υπό τις συνθήκες αντίδρασης που περιγράφηκαν, η δραστηριότητα 1 U/L ALT αποδίδει $\Delta Abs./Min.$ της τάξης του 0,0004.

Βιβλιογραφία

- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders co., p 674 & 675 (1982).
- Henley, K.S., Pollard, H.M., J. Lab. Clin. Med. 46:785 (1955).
- Wroblewski, F., La Due, J.S., Proc. Soc. Hm. Biol. Med. 91:569 (1956).
- Henry, R.J., et al, Am. J. Clin. Path. 34:381 (1960).
- The Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology, Scand. J. Clin. Lab. Invest 32:291 (1974).
- Clinica Chimica Acta 105:145F-172F (1980).
- Henry, R.J., Clinical Chemistry: Principles and Technics, Harper & Row, NY, P522 (1968).
- Young, D.S., et al, Clin. Chem. 21:1D (1975).
- Henry, J.B., Clinical Diagnosis & Management by Laboratory Methods, W.B. Saunders Co., Philadelphia, P1437 (1984).
- Έγγραφο NCCLS "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

Υπόμνημα συμβόλων

Χρήση έως (EEEE-MM-HH)	Παρτίδα και κωδικός παρτίδας
Αριθμός καταλόγου	Κατασκευαστής
In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν	Όρια θερμοκρασίας
Συμβουλευθείτε τις οδηγίες χρήσης	Rx Only: Χρήση μόνο με ιατρική συνταγή
Σήμανση CE	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα

12-A7526-100

Παρασκευάζεται από
HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand
5449 Research Drive Canton, MI 48188



Παρασκευάζεται από την HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρώπη:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Brussels, ΒΕΛΓΙΟ

Τηλ.: (32)2.732.59.54 Φαξ: (32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



Αντιδραστήρια πιστοποιημένα ως προς την απόδοση

Τα αντιδραστήρια της Pointe είναι πιστοποιημένα για παρασκευή σύμφωνα με καθορισμένες παραμέτρους. Οποιοδήποτε προϊόν αντιδραστηρίου της Pointe δεν πληροί τις προδιαγραφές έως την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης του θα αποκαθίσταται αμέσως χωρίς χρέωση.