

Przeznaczenie

Do ilościowego oznaczania aminotransferazy alaninowej (ALT) w surowicy przy użyciu analizatorów Yumizen C230 i Yumizen C240. **Rx Only.**

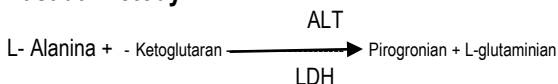
Znaczenie kliniczne

ALT jest szeroko rozpowszechniony w tkankach, a najwyższe stężenia stwierdza się w wątrobie i nerkach. Mimo to ALT jest uważany za bardziej swoisty dla wątroby niż AST. Podwyższony poziom ALT często obserwuje się tylko w chorobach wątroby, takich jak marskość wątroby, zapalenie wątroby lub rak z przerzutami. Jednak przy mononukleozie zakaźnej, dystrofii mięśniowej i zapaleniu skórno-mięśniowym może występować podwyższony poziom ALT.¹

Historia metody

Metody UV oznaczania ALT zostały opisane przez Henleya² w 1955 r. oraz Wróblewskiego i La Due³ w 1956 r. Procedura została udoskonalona i zoptymalizowana przez Henry'ego i wsp.⁴ w 1960 r. W 1974 r. Skandynawskie Towarzystwo Chemii Klinicznej⁵ zaleciło zoptymalizowane warunki reakcji. Międzynarodowa Federacja Chemii Klinicznej (IFCC)⁶ opublikowała w 1980 roku proponowaną zalecaną metodę wykorzystującą test sprzężenia LDH-NADH. Opisana tutaj procedura jest oparta na tej metodzie.

Zasada metody



ALT katalizuje przeniesienie grupy aminowej z L-alaniny do -ketoglutaranu, w wyniku czego powstaje pirogronian i L-glutaminian. Dehydrogenaza mleczanowa katalizuje redukcję pirogronianu i jednocześnie utlenianie NADH do NAD. Wynikająca z tego szybkość spadku absorpcji jest wprost proporcjonalna do aktywności ALT.

Odczynniki

Po połączeniu R1 i R2 odczynnik zawiera: L-alaninę >450mM, - kwas ketoglutaryowy >14mM, LDH(mikrobowy) >2000IU/L, NADH >0,18mM, bufor, azydek sodu 0,28%, stabilizatory.

Przygotowanie odczynnika

Odczynniki są gotowe do użycia.

Przechowywanie odczynnika

Przechowywać odczynniki w temperaturze 2-8°C. Odczynnik jest stabilny do daty ważności podanej na etykiecie, o ile jest przechowywany zgodnie z zaleceniami.

Degradacja odczynnika

Nie używać odczynnika, jeśli:

1. Początkowa absorpcja przy 340 nm wynosi poniżej 0,800.
2. Odczynnik nie spełnia podanych parametrów działania

Środki ostrożności

3. Ten zestaw odczynników jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.

1. Odczynnik zawiera jako środek konserwujący azydek sodu (0,28%). Nie spożywać. Może reagować z ołowianymi i miedzianymi instalacjami wodociągowymi, tworząc wysoce wybuchowe azydki metali. Po usunięciu splukać dużą ilością wody, aby zapobiec gromadzeniu się azydku.

Pobieranie i przechowywanie próbek

1. Hemolizowane próbki nie mogą być używane, ponieważ czerwone krwinki zawierają ALT.⁷
2. ALT w surowicy jest stabilny przez trzy dni w temperaturze pokojowej (15-30°C), siedem dni w lodówce (2-8°C) i trzydzieści dni w stanie zamrożonym (-20°C).⁷

Interferencje

1. Szereg leków i substancji wpływa na aktywność ALT. Patrz Young i wsp.⁸
2. Stwierdzono, że bilirubina do co najmniej 30 mg/dl i hemoglobina do co najmniej 400 mg/dl mają znikomy wpływ na tę procedurę.

Materiały zapewnione

ALT (SGPT) Odczynniki R1 i R2

Materiały wymagane ale niedostarczane

1. Analizator Yumizen C230 / Yumizen C240
2. Yumizen C230 / Yumizen C240
3. Kontrola chemiczna, numer katalogowy C7592-100

Parametry testu

Test:	ALT	Nazwa chem:	ALT
Numer:	202	Wydruk:	ALT
Typ reakcji:	Kinetyczny	Kierunek reakcji:	Malejąca
Pri. Wave:	340 nm	Sec. Wave:	405 nm
Miejsca dziesiętne:	0	Typ próbki:	Surowica
Próba ślepa:		Cykl reakcji:	3 11
Jednostka:	U/L	Cykl inkubacji:	3

	Obj. próbki	Aspiracja	Rozcieńczalnik	Obj. odczynnika	Rozcieńczalnik
Prawidłowa;	9 uL	uL	uL	R1: 180 uL	uL
Zmniejszona;	uL	uL	uL	R2: 45 uL	uL
Zwiększona;	uL	uL	uL		uL

Zakres liniowości (Prawidłowy): 0-300

Zakres liniowości (Zmniejszony):

Zakres liniowości (Zwiększony):

Abs. R1/próba ślepa: - 40000 40000

Próba ślepa: - 40000 40000

Chemia bliźniacza:

Limit liniowości: 0.3

Zużycie substratu: 5000

Mieszana Abs. próby - 40000 40000

ślepej: 30 Dni

Stabilność na pokładzie: 5

Limit alarmu odczynnika:

Efekt Prozone:

Q1:

Q2:

Q3:

Q4:

PC:

ABS:

Użyj wyniku jakościowego:

Zakres:

Flagi:

Przesunięcie i nachylenie:

Przesunięcie

Nachylenie

Jednostka

1

0

U/L

Przygotowanie:

Objętość próbki: uL

Objętość odczynnika.: uL

Zakres referencyjny:

Typ próbki: Płeć: Zakres dla wieku:

Zakres ref.: Wartości krytyczne: Jednostka:

Parametry kalibracji

Chem:	ALT				
Ustawienia kalibracji	Model mat: K Factor	Kalibrator	Stężenie.	Poz	Nr serii
Factor: 4700.000	Powtórzenia: 2	Woda	0.0	W	
Akceptowalne limity	Ważność kalbi.: 24 godz.				
Różnica nachylenia: SD:					
Czułość: Powtarzalność:					
Współczynnik determinacji:					
Automatyczna kalibracja	<input type="checkbox"/> Po upływie ważności				

* Zdefiniowane przez użytkownika

Pointe ALT (SGPT) Reagent Set

Ograniczenia

1. Mętne lub bardzo żółtawe próbki mogą dawać odczyty, których początkowa absorbancja przekracza możliwości spektrofotometru. Dokładniejsze wyniki można uzyskać stosując 0,05ml (50ul) próbki i mnożąc ostateczną odpowiedź przez dwa.
2. Próbkę o wartościach powyżej 500 IU/L należy rozcieńczyć solą fizjologiczną w stosunku 1:1, ponownie oznaczyć i pomnożyć wynik przez dwa.

Kalibracja

Procedura jest standaryzowana za pomocą milimolowej absorpcji NADH, przyjętej jako 6,22 przy 340 nm w opisanych warunkach testowych.

Obliczenia (przykład)

Jedna jednostka międzynarodowa (IU/L) jest zdefiniowana jako ilość enzymu, która katalizuje przemianę jednego mikromola substratu na minutę w określonych warunkach.

$$\text{ALT (IU/L)} = \frac{\text{Abs./Min.} \times 1.10 \times 1000}{6.22 \times 0.10 \times 1.0} = \text{Abs./min.} \times 1768$$

Where Abs./Min. = Średnia zmiana absorbancji na minutę
1000 = Konwersja IU/ml na IU/L
1.10 = Całkowita objętość reakcji (ml)
6.22 = Milimolowa absorpcja NADH
0.10 = Objętość próbki (ml)
1.0 = Droga światła w cm

Przykład: Jeśli średnia zmiana absorbancji na minutę = 0.12 wtedy $0.12 \times 1768 = 212$ IU/L

UWAGA: W przypadku zmiany parametrów testu należy ponownie obliczyć współczynnik, korzystając z powyższego wzoru.

Jednostki SI: Aby przeliczyć na jednostki SI (nkat/L), pomnóż IU/L przez 16,67.

Kontrola jakości

Ważność reakcji należy monitorować przy użyciu surowic kontrolnych ze znanymi prawidłowymi i nieprawidłowymi wartościami ALT (SGPT). Kontrole te należy przeprowadzać co najmniej na każdej zmianie, podczas której wykonywane są oznaczenia ALT (SGPT). Zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło własną częstotliwość oznaczania kontroli. Kontrolę jakości należy przeprowadzać zgodnie z lokalnymi, stanowymi i/lub federalnymi przepisami lub wymaganiami dotyczącymi akredytacji.

Wartości oczekiwane⁹

4 do 24 IU/L (30°C)

4 do 36 IU/L (37°C)

Ponieważ na oczekiwane wartości mają wpływ wiek, płeć, dieta i położenie geograficzne, zdecydowanie zaleca się każdemu laboratorium ustalenie własnego zakresu referencyjnego dla tej procedury.

Charakterystyka

1. Liniowość: 0-500 IU/L.
2. Porównanie: przeprowadzono badanie serii Yumizen 200 i podobnego analizatora przy użyciu tej metody, uzyskując współczynnik korelacji 0,999 i równanie regresji $y=0,94x + 5,8$. (n=33).
3. Precyzja: Badania precyzji przeprowadzono za pomocą analizatora serii Yumizen 200 po modyfikacji wytycznych zawartych w dokumencie NCCLS EP5-T2.¹⁰

W serii (n=20)			Całkowita (n=20)		
Średnia	S.D.	C.V.%	Średnia	S.D.	C.V.%
35.4	1.3	3.6	41.8	1.5	3.6
89.5	1.1	1.3	111.9	2.6	2.3

4. Czulość: Czulość dla tego odczynnika została zbadana poprzez odczyt zmiany absorbancji przy 340 nm dla próbki soli fizjologicznej i surowicy o znanych stężeniach. Wykonano dziesięć powtórzeń. Wyniki tego badania wykazały, że na używanym analizatorze odczynnik ALT (SGPT) wykazywał niewielki dryf odczynnika lub nie wykazywał go wcale na próbce zerowej. W opisanych warunkach reakcji 1 U/l aktywności ALT daje Abs/Min. 0,0004.

Piśmiennictwo

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

Symbole

Use by (YYYY-MM-DD)	Nr LOT i kod partii
Numer katalogowy	Producent
Wyłącznie do diagnostyki <i>in vitro</i>	Zakres temperatur
Zapoznaj się z instrukcją użytkownika	Rx Only: Wyłącznie do profesjonalnego użytku
Znak CE	Autoryzowany przedstawiciel na Europie

12-A7526-100 Wyprodukowano przez HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand 5449 Research Drive Canton, MI 48188

Manufactured by HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand 5449 Research Drive, Canton, MI 48188

European Authorized Representative:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Brussels, BELGIUM

Tel: (32)2.732.59.54 Fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



Certyfikacja

Odczynniki Pointe są certyfikowane zgodnie z określonymi parametrami. Każdy odczynnik Pointe, który nie spełnia specyfikacji w podanym terminie ważności, zostanie natychmiast i bezpłatnie wymieniony.