

Naudojimo instrukcija

© 2018 Beckman Coulter, Inc. All rights reserved.

REF

OSR6007 4 x 12 ml R1, 4 x 6 ml R2
OSR6107 4 x 50 ml R1, 4 x 25 ml R2
OSR6607 4 x 173 ml R1, 4 x 91 ml R2
OSR60180 4 x 17 ml Liquid P-5-P R1-2
60106 6 x 4 ml Liquid Pyridoxal Phosphate

Skirta tik *in vitro* diagnostikai.**METINĖ PERŽIŪRA**

Peržiūrėjo	Data	Peržiūrėjo	Data

PRINCIPAS**PASKIRTIS**

Kinetinis UV tyrimas, kurio paskirtis – nustatyti alaninaminotransferazės, EB 2.6.1.2 (ALT), kiekį žmogaus serume ir plazmoje „Beckman Coulter“ AU analizatoriais.

OSR6607 skirtas naudoti tik AU5800, AU2700 ir AU5400 sistemose.

OSR60180 skirtas naudoti tik tose sistemose, kurioms tinka 3 dalių reagentai.

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAI

Nuoroda^{1, 2, 3}

ALT yra aminotransferazė – grupė fermentų, kurie katalizuoja grįžtamąjį α -ketorūgščių virtimą į aminorūgštis, perduodami aminogrupes. Kadangi specifinis ALT aktyvumas kepenyse yra maždaug 10 kartų didesnis už aktyvumą širdyje ir skeleto raumenyse, padidėjęs ALT aktyvumas serume dažniausiai laikomas parenchiminės kepenų ligos rodikliu. ALT yra hepatocitų citozolyje, todėl padidėjęs lygis serume parodo hepatocitų plazmos membranos vientisumo pablogėjimą. ALT pasižymi didesniu hepatobiliarinės ligos diagnostiniu jautrumu nei AST. Daugiau kaip 50 kartų viršutinę normos ribą viršijantis aktyvumas daugiausia susijęs su ūminiu virusiniu hepatitu, ūmiaisia kepenų perfuzijos sutrikimais ir ūmine kepenų nekroze, kurią sukėlė nuryti toksinai, įskaitant paracetamolį ir anglies tetrachloridą. Žymų ALT lygio padidėjimą serume galima aptikti, kai sergama įvairiomis, su kepenimis susijusiomis ligomis, įskaitant hepatitą, mononukleozę ir cirozę. ALT lygio padidėjimą galima aptikti, kai sergama virusiniu hepatitu ir kitų formų kepenų ligomis prieš pasireiškiant akivaizdiems klinikiniais simptomams, pvz., gelta. Daugiau kaip 15 kartų viršutinę normos ribą viršijantis lygis visada parodo ūminę virusinės, toksinės arba kraujo apytakos kilmės kepenų ląstelių nekrozę. ALT lygio padidėjimą taip pat galima aptikti, kai sergama ciroze ir ekstrahepatine cholestaze. Nedidelį arba vidutinį ALT lygio padidėjimą taip pat galima stebėti po alkoholio nurijimo arba vaistų, kurių sudėtyje yra penicilino, salicilatų arba opiatų, suvartojimo.

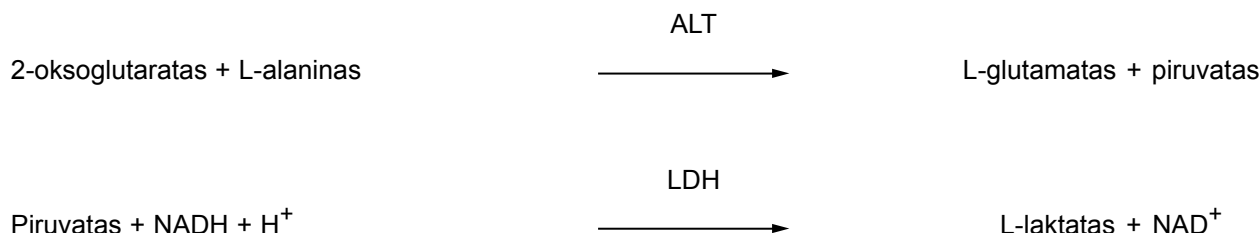
METODOLOGIJA

Nuoroda⁴

Metodas paremtas IFCC (Tarptautinės klinikinės cheminės analizės federacijos) rekomendacijomis.

ALT perduoda aminogrupę iš alanino į 2-oksoglutaratą, taip susidaro piruvatas bei glutamatas. Į reakcijos mišinį pridėjus piridoksolio fosfato, užtikrinamas maksimalus katalizinis ALT aktyvumas. Piruvatas dalyvauja laktato dehidrogenazės (LDH) katalizuojamoje reakcijoje su NADH ir susidaro laktatas bei NAD⁺. Optinio tankio mažėjimas dėl NADH sunaudojimo matuojamas naudojant 340 nm ilgio bangas, mažėjimas yra proporcingas ALT aktyvumui mėginyje. Endogeninis piruvatas pašalinamas inkubavimo laikotarpiu.

CHEMINĖS REAKCIJOS SCHEMA



BANDINYS

BANDINIO RŪŠIS

Serumas ir EDTA arba heparinizuota plazma.

Šlapime ir plazmoje yra stabilus 7 dienas, laikant 2...8 °C, ir 3 dienas, laikant 15...25 °C temperatūroje.⁵

Mėginių laikymo ir stabilumo informacija laboratorijoje naudojama kaip rekomendacijos. Kiekviena laboratorija gali pagal savo konkrečius poreikius nusistatyti kitokią laikymo ir stabilumo informaciją, laikydamosi geros klinikinės praktikos metodų arba naudodamosi kita pagrindžiamąja dokumentacija.

REAGENTAI

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

Imkitės įprastų atsargumo priemonių, kurių reikalaujama naudojant visus laboratorinius reagentus.

Išmeskite visas atliekamas medžiagas pagal vietines rekomendacijas.

Šio gaminio sudėtyje yra gyvulinės kilmės medžiagos. Gaminys turi būti laikomas galima užkrečiamąja medžiaga.

AKTYVIEJI REAGENTAI

Reaktyvių ingredientų galutinė koncentracija:

Tris buferis, pH: 7,15 (37 °C)	100 mmol/l
L-Alaninas	500 mmol/l
2-Oksoglutaratas	12 mmol/l
LDH	≥ 1,8 kV/l
NADH	0,20 mmol/l

Piridoksaliao fosfatas (P-5-P)

0,1 mmol/l (kai naudojamas kat. nr. 60106 arba
OSR60180)

Konservantas

Rinkinio etiketėje nurodytų reagentų reaktingųjų komponentų koncentracijos atitinka atskirų R1 / R2 buteliukų faktines koncentracijas. Naudojimo instrukcijoje nurodyta reagento sudėtis atitinka šių komponentų galutinę koncentraciją reakcijos kiuvetėje, įpylus R1, mėginio ir R2.



DĖMESIO

Natrio azido konservantas metaliniuose nuotekų vamzdynuose gali sudaryti sprogiuosius junginius. Žr. „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazards“ (Nacionalinio darbų saugos ir profesinės sveikatos instituto biuletinį: sprogstamojo azido pavojus) (8/16/76).

Norėdami išvengti galimo azido junginių susikaupimo, išpylę į kanalizacijos sistemą neatskiesto reagento, vandeniu praplaukite nutekamuosius vamzdžius. Natrio azidas turi būti šalinamas pagal taikomų vietos reglamentų reikalavimus.

GHS PAVOJINGUMO KLASIFIKACIJA

ALT R1

ĮSPĖJIMAS

H316

Sukelia nedidelį odos dirginimą.

P332+P313

Jeigu sudirginama oda: kreiptis į gydytoją.

Tris(hidroksimetil)aminomethane (aminometanas) 1 - 5%

SDS

Saugos duomenų lapą galima gauti interneto svetainėje techdocs.beckmancoulter.com

REAGENTO PARUOŠIMAS

Kai rankiniu būdu įdedama piridoksaliao fosfato

„Pyridoxal Phosphate“ skystis (kat. nr. 60106), skirtos aktyvacijai piridoksaliao fosfatu, tiekiamos atskirai. Įleiskite „Pyridoxal Phosphate“ skysčio 60106 į buteliuką R1 pagal toliau pateiktą lentelę ir atsargiai vartydami išmaišykite. Šį metodą taip pat galima naudoti sistemose, kurioms tinka 3 dalių reagentai.

Kat. nr.	„Pyridoxal Phosphate“ skysčio tūris
OSR6007	0,25 ml
OSR6107	1 ml
OSR6607	0,3 ml vamzdelyje ir 3,1 ml vamzdelio išorėje

Vamzdelio išorėje yra tarpas tarp vamzdelio ir butelio kakliuko.

Be aktyvacijos piridoksaliao fosfatu

Reagentai yra paruošti naudoti, juos galima dėti tiesiai į prietaisą.

LAIKYMAS IR STABILUMAS

Neatidaryti reagentai yra stabilūs iki nurodytos galiojimo pabaigos datos, laikant 2...8 °C temperatūroje.

Be aktyvacijos piridoksaliao fosfatu

Atidaryti ir prietaise laikomi reagentai lieka stabilūs 30 dienų.

Su aktyvacija piridoksaliao fosfatu

Pridėjus piridoksaliao fosfato, prietaise laikomas R1 lieka stabilus 7 dienas.

Prietaise laikomas R2 lieka stabilus 30 dienų.

Skysčio pavidalo „Pyridoxal Phosphate“ reagentas (kat. nr. 60106)

Atidarius skysčio pavidalo „Pyridoxal Phosphate“ reagentas yra stabilus iki etiketėje išspausdintos galiojimo pabaigos datos, jei laikantis GLP jis apsaugojamas nuo užteršimo, po naudojimo iš karto uždaromas dangteliu ir laikomas 2...8 °C temperatūroje.

Sistemos, kurioms tinka 3 dalių reagentai, su P-5-P aktyvacija

Reagentų paruošimas

P-5-P skystis (kat. nr. OSR60180) yra specialiai skirtas naudoti sistemose, kurioms tinka 3 dalių reagentai. Reagentas yra paruoštas naudoti, jį galima dėti tiesiai į prietaisą, į R1 sukamąjį įrenginį. R1 ir R2 taip pat yra paruošti naudoti, juos galima dėti tiesiai į prietaisą.

Laikymas ir stabilumas

Atidarytas ir prietaise laikomas P-5-P (kat. nr. OSR60180) lieka stabilus 60 dienų. Atidaryti ir prietaise laikomi reagentai R1 bei R2 lieka stabilūs 30 dienų.

KALIBRAVIMAS

KALIBRAVIMO INFORMACIJA

Tyrimas atliekamas MB režimu. Norint patikimai sugeneruoti specifinį analizatoriaus MB koeficientą, rekomenduojama atlikti 5 atskirus kalibravimus. Per kiekvieną iš jų reikia naudoti naują kalibratoriaus buteliuką su „System Calibrator“ kat. nr. 66300, kurio kalibravimo režimas AB. Skaiciuojant atskiruose tyrimuose gautų rezultatų vidutinį koeficientą, reikia patikrinti, ar duomenyse nėra akivaizdžių išsiskiriančių stebėjimų, kuriuos reikia pakartoti ir pakeisti naujais rezultatais. Jei naudojate AU2700 / AU5400 analizatorių, šią procedūrą reikia atlikti su kiekvienu žiedu. Kokybės kontrolės procedūras reikia atlikti iš karto po kalibravimo, vadovaujantis gera laboratorijos praktika.

Kai naudojama aktyvacija piridoksaliao fosfatu, kalibratoriaus reikšmę galima atsekti pagal IFCC pamatinį metodą ir IRMM / IFCC-454. Kai aktyvacija piridoksaliao fosfatu nenaudojama, kalibratoriaus reikšmę galima atsekti pagal „Beckman Coulter Master Calibrator“.

Pakeitus svarbią analizatoriaus dalį, rekomenduojama iš naujo nustatyti specifinį analizatoriaus MB koeficientą.

Pradedant naudoti naują reagentų partiją, rekomenduojama atlikti tuščiojo reagento matavimą.

KOKYBĖS KONTROLĖ

Galima naudoti kontrolines medžiagas kat. nr. ODC0003 ir ODC0004 arba kitas kontrolines medžiagas, kurios turi reikšmes, nustatytas pagal šią „Beckman Coulter“ sistemą.

Kiekviena laboratorija turi nustatyti savą kontrolinės medžiagos tyrimo dažnumą, tačiau pagal gerą laboratorijos praktiką kontrolines medžiagas rekomenduojama tirti kiekvieną dieną, kai tiriami paciento mėginiai, ir kaskart, kai atliekamas kalibravimas / nulinimas.

Skirtingų laboratorijų gauti rezultatai gali skirtis nuo nurodytos vidutinės reikšmės. Todėl rekomenduojama, kad kiekviena laboratorija pagal savo reikalavimus sudarytų konkrečiai analizei skirtos kontrolinės medžiagos tikslines reikšmes ir intervalus, paremtus keliais tyrimais. Šios tikslinės reikšmės turi neperžengti atitinkamų priimtinių ribų, pateiktų atitinkamo produkto literatūroje.

Jei aptiksite kokių nors reikšmių tendencijų ar staigių pokyčių, peržiūrėkite visus darbinius parametrus.

Kiekviena laboratorija turi nustatyti ištaisomųjų veiksmų gaires, jei kontrolinių medžiagų tyrimo rezultatai neatitinka nurodytų ribų.

TYRIMO PROCEDŪRA (-OS)

Nurodymai, kaip konkrečiu analizatoriumi tirti skyriuje „Paskirtis“ nurodytų tipų mėginius, pateikiami „Beckman Coulter“ analizatoriaus AU „User Guide“ (Naudotojo žinyne) arba „Instructions for Use“ (IFU) (Naudojimo instrukcijoje). Tiriant vaikus galima naudoti mažo tūrio serumo arba plazmos mėginius.

SKAIČIAVIMAI

„Beckman Coulter“ analizatoriai automatiškai apskaičiuoja ALT aktyvumą kiekviename mėginyje.

REZULTATŲ PATEIKIMAS

PAMATINIAI VERČIŲ INTERVALAI

Nuoroda^{6, 7}

Vyrų (suaugusių)	< 50 V/l (0,85 µkat/l)
Moterų (suaugusių)	< 35 V/l (0,60 µkat/l)
Naujagimių / kūdikių	13 – 45 V/l (0,22 – 0,75 µkat/l)

Tikėtinios reikšmės gali skirtis atsižvelgiant į amžių, lytį, mėginio tipą, mitybą ir geografinę vietą. Kiekviena laboratorija turi patikrinti galimybę perkelti tikėtiną reikšmę į savo populiaciją, o jei reikia, turi nustatyti savas normas ribas vadovaudamasi gera laboratorijos praktika. Diagnozavimo tikslais gautus rezultatus visada reikia vertinti atsižvelgiant į paciento ligos istoriją, klinikinius tyrimus ir kitus duomenis.

PROCEDŪROS PASTABOS

RIBOJIMAI

Labai lipeminių mėginių rezultatai gali viršyti reakcijos optinį tankį ir būti pažymėti ženklu „@“. Tokius mėginius reikia atskiesti ir iširti iš naujo.

TRUKDŽIAI

Atlikus tyrimus, kuriais buvo siekiama įvertinti metodo jautrumą medžiagų įtakai, gauti tokie rezultatai:

Gelta:	įtaka mažesnė nei 5 % iki 40 mg/dl arba 684 µmol/l bilirubino
Hemolizė:	įtaka mažesnė nei 10 % iki 5 g/l hemoglobino
Lipemija:	įtaka mažesnė nei 3 % iki 300 mg/dl „Intralipid“
Piruvatas:	įtaka mažesnė nei 5 % iki 1 mmol/l piruvato

Tiriant pacientus, gydytus sulfasalazinu, gali būti nustatoma klaidingai per maža ALT koncentracija.

Išsamesnę informaciją apie įtaką darančias medžiagas žr. Young.⁸

ANALITINĖS CHARAKTERISTIKOS

ANALITINĖS CHARAKTERISTIKOS

Šiame skyrelyje pateikti duomenys nurodo „Beckman Coulter“ sistemų eksploatavimo ypatybes. Jūsų laboratorijoje gauti duomenys gali skirtis nuo šių reikšmių.

LINIJIŠKUMAS

Tyrimas yra tiesinis esant 3 – 500 V/l (0,05 – 8,33 μ kat/l) fermentų aktyvumui.

JAUTRUMAS

Analizatoriumi AU5800 aptinkama apytikslė mažiausia koncentracija serume 2 V/l.

Mažiausias aptinkamas lygis reiškia mažiausią išmatuojamą ALT lygį, kurį galima atskirti nuo nulio. Jis apskaičiuojamas prie absoliutaus vidurkio pridėdant mėginio be analizės 20 kartotinių tris standartinius nuokrypius.

METODŲ PALYGINIMAS

Naudojant paciento serumo mėginius ALT OSR6107 tyrimas, atliekamas AU640 analizatoriumi, buvo palygintas su IFCC pamatiniu metodu. Gauti tokie tiesinės regresijos analizės rezultatai:

$y = 1,010x - 0,1$	$r = 0,999$	$n = 117$	Mėginio ribos = 3 – 264 V/l
--------------------	-------------	-----------	-----------------------------

PRECIZIŠKUMAS

Toliau nurodyti duomenys gauti analizatoriumi AU5800, per 20 dienų ištyrus 3 serumo telkinius.

n = 80 Vidurkis V/l	Tyrimas		Bendras	
	SN	VK (%)	SN	VK (%)
19	0,38	2,1	0,50	2,7
55	0,68	1,2	1,17	2,1
438	1,70	0,4	4,27	1,0

PAPILDOMA INFORMACIJA

Sistemoje „DxC 700 AU“ reikalaujama, kad kiekvienam reagentų naudojimo būdai būtų suteiktas standartinio formato sutrumpintas uždarojo testo pavadinimas. Uždarojo testo pavadinimas reikalingas, kad būtų galima automatiškai įkelti kiekvieno naudojimo būdo kalibratoriaus informaciją kaip uždarosios sistemos „DxC 700 AU“ dalį. Kiekvienam šio tyrimo naudojimo būdai priskirti uždarytų testų pavadinimai nurodyti toliau pateikiamoje lentelėje.

Testo pavadinimas	Aprašymas
ALT1N	ALT (be P5P)
ALT1NP	ALT (vaikų tyrimai, be P5P)
ALT2N	ALT (su P5P 60106)
ALT2NP	ALT (vaikų tyrimai, su P5P 60106)

Testo pavadinimas	Aprašymas
ALT3N	ALT (su P5P OSR60180)
ALT3NP	ALT (vaikų tyrimai, su P5P OSR60180)

Nustatymų lentelių išnašos

Vartotojo nustatytas

* Reikšmės yra nustatytos darbui su V/l vienetais. Jei norite SI vienetų ($\mu\text{kat/l}$), padalykite iš 60.

§ Naudoti tik AB režimu, daugiau nurodymų žr. naudojimo instrukcijoje.

DUOMENŲ PERŽIŪROS

Naudojimo instrukcija papildyta vertimu į vietnamiečių kalbą.

Ankstesnės versijos peržiūrų istorija

Dabar OSR65XX yra nebevartojamas.

Peržiūrėtas principas

Peržiūrėtas skyrius „Mėginys“.

Peržiūrėtas skyrius „Reagentai“.

Atnaujintas skyrius „Papildoma informacija“.

LITERATŪRA

1. Thomas L. Alanine aminotransferase (ALT), Aspartate aminotransferase (AST). In: Thomas L, ed. Clinical laboratory diagnostics. Use and assessment of clinical laboratory results. Frankfurt/Main: TH-Books Verlagsgesellschaft, 1998:55-65.
2. Moss DW, Henderson RA, Kachmar JF. Enzymes. In: Tietz NW, ed. Fundamentals of clinical chemistry. Philadelphia: WB Saunders Company, 1987:369-373.
3. Schmidt E, Schmidt FW. Diagnosis of icteric diseases. Dtsch Med Wschr 1984; 109: 139-146.
4. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F et al. IFCC Primary Reference Procedures for the Measurement of Catalytic Activity Concentrations of Enzymes at 37°C. Part 4. Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Concentration of Alanine Aminotransferase. Clin Chem Lab Med 2002;40:718-24.
5. Ehret W, Heil W, Schmitt Y, Töpfer G, Wissner H, Zawta B, et al. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2:21pp.
6. Thomas L, Müller M, Schumann G et al. Consensus of DGKL and VDGH for interim reference intervals on enzymes in serum. J Lab Med 2005;29:301-08.
7. Painter PC, Cope JY, Smith JL. Reference information for the clinical laboratory. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz textbook of clinical chemistry. Philadelphia: WB Saunders Company, 1999; 1800pp.
8. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.

EC REP Beckman Coulter Ireland Inc., Lismeehan, O'Callaghan's Mills Co. Clare, Ireland (001) 703-527-3887

 Beckman Coulter, Inc., 250 S. Kraemer Blvd., Brea, CA 92821 U.S.A.