

Alanine Aminotransferase acc. to IFCC with pyridoxal phosphate activation

Užsakymo informacija

REF	CONTENT	Analizatorius (-iai), su kuriuo (-iais) galima naudoti cobas c pakuotę (-es)
04467388 190	Alanine Aminotransferase acc. to IFCC 275 tyrimų	Sistemos-ID 07 6858 8 Roche/Hitachi cobas c 311 , cobas c 501/502
10759350 190	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL)	Kodas 401
10759350 360	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL, skirta JAV)	Kodas 401
12149435 122	Precinorm U plus (10 x 3 mL)	Kodas 300
12149435 160	Precinorm U plus (10 x 3 mL, skirta JAV)	Kodas 300
12149443 122	Precipath U plus (10 x 3 mL)	Kodas 301
12149443 160	Precipath U plus (10 x 3 mL, skirta JAV)	Kodas 301
10171743 122	Precinorm U (20 x 5 mL)	Kodas 300
10171735 122	Precinorm U (4 x 5 mL)	Kodas 300
10171778 122	Precipath U (20 x 5 mL)	Kodas 301
10171760 122	Precipath U (4 x 5 mL)	Kodas 301
05117003 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (20 x 5 mL)	Kodas 391
05947626 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL)	Kodas 391
05947626 160	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL, skirta JAV)	Kodas 391
05117216 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (20 x 5 mL)	Kodas 392
05947774 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL)	Kodas 392
05947774 160	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL, skirta JAV)	Kodas 392
04489357 190	Diluent NaCl 9 % (50 mL)	Sistemos-ID 07 6869 3

Lietuvių

Sistemos informacija

Skirta **cobas c 311/501** analizatoriams:**ALTLP**: ACN 684Skirta **cobas c 502** analizatoriui:**ALTPM**: ACN 8681

Paskirtis

Kiekybinis in vitro tyrimas, skirtas alanino aminotransferazės (AST) aktyvumo nustatymui su aktyvinimu piridoksolio fosfatu žmogaus serume ir plazmoje, naudojant Roche/Hitachi **cobas c** sistemas.

Santrauka^{1,2}

Fermentas alanino aminotransferazė (ALT) buvo nustatytas įvairiuose audiniuose. Pagrindinis ALT šaltinis yra kepenys, todėl ALT aktyvumas yra nustatinėjamas diagnozuojant kepenų ligas. Padidėjęs ALT aktyvumas serume nustatomas hepatito, cirozės, obstrukcinės gelsos, kepenų karcinomos ir lėtinio alkoholizmo metu. ALT nedaug padidėja ir pacientams, kuriems pasireiškia nekomplikuotas miokardo infarktas.

Nors tiek serumo aspartato aminotransferazė (AST), tiek ALT padidėja, kai ligos procesas pažeidžia kepenų ląstelių vientisumą, ALT yra labiau specifiškas kepenims fermentas. Be to, ALT aktyvumo padidėjimas išlieka ilgiau nei AST aktyvumo padidėjimas.

Piridoksolio fosfato pridėjimas į tyrimą nulemia aminotransferazės aktyvumo padidėjimą. AST aktyvuojama labiau nei ALT. Aktyvinimas piridoksolio fosfatu apsaugo nuo klaidingai mažo aminotransferazės aktyvumo pacientų, kuriems trūksta endogeninio piridoksolio fosfato (vitamino B₆ stoka), mėginiuose.

Tyrimo principas

Šis tyrimas atitinka IFCC rekomendacijas, tačiau buvo optimizuotas jo veiksmingumas ir stabilumas.^{3,4}

ALT katalizuoja reakciją tarp L-alanino ir 2-oksoglutarato. Susidaręs piruvatas reakcijos, kurią katalizuoja laktato dehidrogenazė (LDH), metu NADH yra redukuojamas, susidarant L-laktatui ir NAD⁺. Piridoksolio fosfatas veikia kaip amino grupės pamašos reakcijos kofermentas. Jis užtikrina visišką fermento aktyvumą.



NADH oksidacijos greitis yra tiesiogiai proporcingas katalitiniam ALT aktyvumui. Jis nustatomas matuojant absorbcijos sumažėjimą.

Reagentai - darbiniai tirpalai

R1 TRIS buferis: 224 mmol/L, pH 7.3 (37 °C); L-alaninas: 1120 mmol/L; albuminas (galvijų): 0.25 %; LDH (mikroorganizmų): ≥ 45 μkat/L; stabilizatorius; konservantas

R2 Piridoksolio fosfatas: 730 μmol/L; priedai; konservantas

R3 2-Oksoglutaratas: 94 mmol/L; NADH: ≥ 1.7 mmol/L; priedai; konservantas

R1 yra A pozicijoje, R2 yra B pozicijoje, o R3 yra C pozicijoje.

Atsargumo priemonės ir įspėjimai

Skirta naudoti in vitro diagnostikai. Laikykitės įprastų atsargumo priemonių, būtinų dirbant su visais laboratorijos reagentais.

Visos atliekos turi būti tvarkomos laikantis vietos reikalavimų. Saugos duomenų lapas pateikiamas profesionaliems naudotojams paprašius.

Skirta JAV: DÉMESIO: Federaliniai įstatymai leidžia šį prietaisą parduoti tik gydytojui arba gydytojo paskyrimu.

Reagentų paruošimas

Paruoštas naudojimui

Laikymo sąlygos ir stabilumas

ALTLP

Tinkamumo laikas 2-8 °C temperatūroje:

Žr. galiojimo datą ant **cobas c** pakuotės etiketės.

Naudojamo ir šaldomo analizatoriuje:

12 savaičių

Diluent NaCl 9 %

Tinkamumo laikas 2-8 °C temperatūroje:

Žr. galiojimo datą ant **cobas c** pakuotės etiketės.

Alanine Aminotransferase acc. to IFCC with pyridoxal phosphate activation

Naudojamo ir šaldomo analizatoriuje: 12 savaičių

Mėginių surinkimas ir paruošimas

Mėginių surinkimui ir paruošimui naudokite tik tinkamus mėgintuvėlius ar surinkimo talpyklas.

Buvo patikrinti ir yra priimtini tik toliau išvardyti mėginiai.

Serumas.

Plazma: Li-heparino ir K₂-EDTA plazma.

Išvardintų rūšių mėginiai buvo tiriami, pasirinkus tyrimo metu rinkoje buvusius mėgintuvėlius, t.y. nebuvo patikrinti visų gamintojų mėgintuvėliai. Įvairių gamintojų mėginių surinkimo sistemose gali būti skirtingų medžiagų, kurios kai kuriais atvejais gali paveikti tyrimo rezultatus. Jei mėginius apdorojate pirminiuose mėgintuvėliuose (mėginių surinkimo sistemose), laikykite mėgintuvėlių gamintojo instrukcijų.

Prieš atlikdami tyrimą, mėginius su nuosėdomis centrifuguokite.

Stabilumas: 3 dienos 15-25 °C temperatūroje^{5,6}

7 dienos 2-8 °C temperatūroje^{5,6}

> 7 dienos (-60)-(-80) °C temperatūroje⁶

Pateiktos medžiagos

Apie reagentus skaitykite skyriuje „Reagentai - darbiniai tirpalai“.

Reikalingos (bet nepateikiamos) medžiagos

- Skaitykite skyriuje „Užsakymo informacija“.
- Bendra laboratorijos įranga

Tyrimas

Kad tyrimas būtų atliktas tinkamai, laikykite šiame dokumente pateiktų analizatoriaus naudojimo instrukcijų. Specifines analizatoriaus tyrimo instrukcijas skaitykite atitinkamame naudotojo vadove.

Pritaikymų nepatvirtintų Roche veikimas nėra užtikrintas ir turi būti apibrėžtas vartotojo.

Pritaikymas serumui ir plazmai**cobas c 311 tyrimo apibūdinimas**

Tyrimo tipas	Greitis A		
Reakcijos laikas/Tyrimo taškai	10 / 29-57		
Bangos ilgis (sub/pagrindinis)	700/340 nm		
Reakcijos kryptis	Sumažėjimas		
Vienetai	V/L (μkat/L)		
Reagentų išpilstymas	Skiediklis (H ₂ O)		
R1	59 μL	32 μL	
R2	20 μL	–	
R3	20 μL	20 μL	
<i>Mėginių tūriai</i>	<i>Mėginys</i>	<i>Mėginio skiedimas</i>	
		<i>Mėginys</i>	<i>Skiediklis (NaCl)</i>
Normalus	9 μL	–	–
Sumažintas	9 μL	15 μL	135 μL
Padidintas	9 μL	–	–

cobas c 501 tyrimo apibūdinimas

Tyrimo tipas	Greitis A		
Reakcijos laikas/Tyrimo taškai	10 / 44-70		
Bangos ilgis (sub/pagrindinis)	700/340 nm		
Reakcijos kryptis	Sumažėjimas		
Vienetai	V/L (μkat/L)		
Reagentų išpilstymas	Skiediklis (H ₂ O)		

R1	59 μL	32 μL	
R2	20 μL	–	
R3	20 μL	20 μL	
<i>Mėginių tūriai</i>	<i>Mėginys</i>	<i>Mėginio skiedimas</i>	
		<i>Mėginys</i>	<i>Skiediklis (NaCl)</i>
Normalus	9 μL	–	–
Sumažintas	9 μL	15 μL	135 μL
Padidintas	9 μL	–	–

cobas c 502 tyrimo apibūdinimas

Tyrimo tipas	Greitis A		
Reakcijos laikas/Tyrimo taškai	10 / 44-70		
Bangos ilgis (sub/pagrindinis)	700/340 nm		
Reakcijos kryptis	Sumažėjimas		
Vienetai	V/L (μkat/L)		
Reagentų išpilstymas	Skiediklis (H ₂ O)		
R1	59 μL	32 μL	
R2	20 μL	–	
R3	20 μL	20 μL	
<i>Mėginių tūriai</i>	<i>Mėginys</i>	<i>Mėginio skiedimas</i>	
		<i>Mėginys</i>	<i>Skiediklis (NaCl)</i>
Normalus	9 μL	–	–
Sumažintas	9 μL	15 μL	135 μL
Padidintas	18 μL	–	–

Kalibravimas

Kalibratoriai	S1: H ₂ O S2: C.f.a.s.
Kalibravimo režimas	Tiesinis
Kalibravimo dažnis	2-taškų kalibravimas <ul style="list-style-type: none"> • po reagentų partijos pakeitimo • kaip reikalaujama vadovaujantis kokybės kontrolės procedūromis

Kalibravimo intervalas gali būti praplėstas, remiantis laboratorijai priimtinu kalibravimo patvirtinimu.

Atsekamumas: Šis metodas buvo standartizuotas pagal originalią IFCC sudėtį, naudojant kalibruotas pipetes kartu su rankiniu fotometru, gaunant absoliučias reikšmes ir substratui specifinę absorbciją, e.⁷

Kokybės kontrolė

Kokybės kontrolei, naudokite medžiagas išvardintas „Užsakymo informacija“ skyriuje.

Papildomai galima naudoti kitą tinkamą kontrolinę medžiagą.

Vadovaukitės nustatytais valstybiniais ir vietiniais reikalavimais kokybės kontrolei užtikrinti.

Kontrolės intervalai ir apribojimai turėtų atitikti kiekvienos laboratorijos individualius reikalavimus. Gautos reikšmės turėtų patekti į nustatytas ribas. Kiekviena laboratorija turi numatyti korekcines priemones, kurių reikėtų imtis, reikšmėms nepatekus į nustatytas ribas.

Skaiciavimas

Roche/Hitachi **cobas c** sistemos automatiškai apskaičiuoja kiekvieno mėginio analitės aktyvumą.

Perskaiciavimo faktorius: V/L x 0.0167 = μkat/L

Apribojimai - poveikiai

Kriterijus: Vertės suradimas $\pm 10\%$ pradinės reikšmės ribose, kai ALT aktyvumas yra 35 V/L (0.58 $\mu\text{kat/L}$).

Gelta:⁸ Jokio reikšmingo poveikio, I indekso reikšmei esant iki 60 konjuguotam ir nekonjuguotam bilirubinui (apytikslė konjuguoto ir nekonjuguoto bilirubino koncentracija: 1026 $\mu\text{mol/L}$ arba 60 mg/dL).

Hemolizė:⁸ Jokio reikšmingo poveikio, H indekso reikšmei esant iki 170 (apytikslė hemoglobino koncentracija: 106 $\mu\text{mol/L}$ arba 170 mg/dL). Užteršimas eritrocitais padidina rezultatus, kadangi analitės koncentracija eritrocituose yra didesnė nei normaliame serume. Sąveikos lygis gali būti įvairus, priklausomai nuo analitės turinio lizuotose eritrocituose.

Lipemija (Intralipidai):⁸ Jokio reikšmingo poveikio, L indekso reikšmei esant iki 150. Tarp L indekso (atitinka turbidiskumą) ir trigliceridų koncentracijos koreliacija yra silpna.

Lipemiški mėginiai gali nulemti > Abs žymėjimą. Automatiniam kartotiniam mėginių tyrimui pasirinkite skiestų mėginių paruošimą.

Vaistai: Nebuvo nustatyta jokios įtakos naudojant įprastus vaistus terapinėmis koncentracijomis.^{9,10}

Išimtis: Terapinėmis koncentracijomis izoniazidas ir kalcio dobesilas gali lemti dirbtinai žemus, o furozemidas dirbtinai aukštus ALT rezultatus.

Cyanokit (Hidroksokobalaminas) gali daryti poveikį rezultatams.

Fiziologinė sulfasalazino arba sulfapiridino koncentracija plazmoje gali nulemti klaidingus rezultatus.

Labai retais atvejais gamapatijos, ypač IgM tipo (Waldenström makroglobulinemija), gali sąlygoti nepatikimus rezultatus.¹¹

Diagnozuojant, rezultatai visada turėtų būti vertinami kartu su paciento anamneze, fizinio ištyrimo duomenimis ir kitais radiniais.

REIKALINGI VEIKSMAI

Speciali plovimo programa: Specialių plovimo žingsnių naudojimas yra būtinas, kai Roche/Hitachi **cobas c** sistemose kartu atliekamos tam tikrų tyrimų kombinacijos. Naujausias pernašos išvengimo sąrašas pateikiamas kartu su NaOHD-SMS-SmpCln1+2-SCCS metodų lapais. Išsamesnių instrukcijų ieškokite naudotojo vadove. **cobas c** 502 analizatorius: Visa specialaus plovimo programa, skirta pemešimui išvengti, yra prieinama per **cobas** link, rankinis informacijos suvedimas nereikalingas.

Kai reikalaujama, prieš pranešant šio tyrimo rezultatus turi būti įgyvendinama specialaus plovimo/pernešimo išvengimo programa.

Apribojimai ir reikšmių ribos**Matavimo ribos**

5-700 V/L (0.08-11.7 $\mu\text{kat/L}$)

Didesnio aktyvumo mėginius tirkite naudodami pakartotinio tyrimo funkciją. Naudojant pakartotinio tyrimo funkciją, mėginių skiedimo santykis yra 1:10. Mėginių, atskiestų naudojant pakartotinio tyrimo funkciją, rezultatai yra automatiškai padauginami iš koeficiento 10.

Matavimo reikšmių apatinės ribos

Apatinė tyrimo nustatymo riba

5 V/L (0.08 $\mu\text{kat/L}$)

Apatinė nustatymo riba parodo žemiausią išmatuojamą analitės koncentraciją, kurią galima atskirti nuo nulio. Ji apskaičiuojama kaip reikšmė, esanti 3 standartiniais nuokrypiais aukščiau žemiausio standarto (standartas 1 + 3 SN, atkartojamumas, n = 21).

Tikėtinės reikšmės

Pagal IFCC/Standartinį metodą 94 su aktyvinimu piridoksalia fosfatu, išmatuota 37 °C temperatūroje:¹²

Vyrai 10-50 V/L (0.17-0.83 $\mu\text{kat/L}$)

Moterys 10-35 V/L (0.17-0.58 $\mu\text{kat/L}$)

Sutarimo reikšmės su aktyvinimu piridoksalia fosfatu:¹³

Vyrai iki 50 V/L (iki 0.83 $\mu\text{kat/L}$)

Moterys iki 35 V/L (iki 0.58 $\mu\text{kat/L}$)

Kiekviena laboratorija turėtų įvertinti tikėtinų reikšmių tinkamumą savų pacientų populiacijai ir, jei būtina, nustatyti savo rekomenduojamas reikšmes.

Specifiniai tyrimo atlikimo duomenys

Toliau pateikiami atitinkamų analizatorių tyrimo charakteristikų duomenys. Atskirose laboratorijose gauti rezultatai gali skirtis.

Glaudumas

Glaudumas buvo nustatytas naudojant žmonių mėginius ir kontrolines medžiagas, pagal vidinį protokolą, su atkartojamumu (n = 21) ir tarpiniu glaudumu (3 lygios dalys per vieną tyrimą, 1 tyrimas per dieną, 20 dienų). Buvo gauti šie rezultatai:

Atkartojamumas	Vidurkis		CV
	V/L ($\mu\text{kat/L}$)	V/L ($\mu\text{kat/L}$)	%
Precinorm U	42.1 (0.70)	0.6 (0.01)	1.3
Precipath U	124 (2.07)	1 (0.01)	0.5
Žmogaus serumas 1	122 (2.03)	1 (0.01)	0.6
Žmogaus serumas 2	7.33 (0.12)	0.94 (0.02)	12.9
Tarpinis glaudumas	Vidurkis		CV
	V/L ($\mu\text{kat/L}$)	V/L ($\mu\text{kat/L}$)	%
Precinorm U	41.9 (0.70)	0.7 (0.01)	1.6
Precipath U	124 (2.07)	1 (0.02)	1.0
Žmogaus serumas 3	26.3 (0.44)	0.8 (0.01)	2.9
Žmogaus serumas 4	122 (2.03)	4 (0.07)	3.6

Metodų palyginimas

Žmogaus serumo ir plazmos mėginių ALT reikšmės, gautos Roche/Hitachi **cobas c** 501 analizatoriuje (y), buvo palygintos su reikšmėmis, gautomis naudojant atitinkamą reagentą Roche/Hitachi 917 analizatoriuje (x).

Imties dydis (n) = 198

Passing/Bablok ¹⁴	Tiesinė regresija
$y = 1.000x - 0.438 \text{ V/L}$	$y = 0.994x - 1.72 \text{ V/L}$
$r = 0.931$	$r = 0.995$

Mėginių aktyvumai buvo nuo 5.10 iki 469 V/L (0.085 ir 7.83 $\mu\text{kat/L}$).

Nuorodos

- 1 Sherwin JE. Liver function. In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry, theory, analysis, and correlation. St. Louis: Mosby 1984;420-438.
- 2 Moss DW, Henderson AR, Kachmar JF. Enzymes. In: Tietz NW, ed. Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders 1987;346-421.
- 3 Bergmeyer HU, Hørdler M, Rej R. Approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1986;24:481-495.
- 4 ECCLS. Determination of the catalytic activity concentration in serum of L-alanine aminotransferase (EC 2.6.1.2, ALAT). Klin Chem Mitt 1989;20:204-211.
- 5 Heins M, Heil W, Withold W. Storage of Serum or Whole Blood Samples? Effect of Time and Temperature on 22 Serum Analytes. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1995;33:231-238.
- 6 Data on file at Roche Diagnostics.
- 7 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 Activity Concentration of Alanine Aminotransferase. Clin Chem Lab Med 2002;40(7):718-724.
- 8 Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.
- 9 Breuer J. Report on the Symposium "Drug effects in Clinical Chemistry Methods". Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.




Alanine Aminotransferase acc. to IFCC with pyridoxal phosphate activation

- 10 Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. Ann Clin Biochem 2001;38:376-385.
- 11 Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007;45(9):1240-1243.
- 12 Klauke R, Schmidt E, Lorentz K. Recommendations for carrying out standard ECCLS procedures (1988) for the catalytic concentrations of creatine kinase, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and γ-glutamyltransferase at 37 °C. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1993;31:901-909.
- 13 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(5):301-308.
- 14 Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem Clin Biochem 1988 Nov;26(11):783-790.

Šiuose informaciniuose lapeliuose kaip dešimtainės trupmenos skyriklis visada naudojamas taškas, skiriantis sveikąjį skaičių nuo dešimtainės trupmenos skaitmenų. Tūkstančių skyrikliai nenaudojami.

Simboliai

Roche Diagnostics papildomai naudoja šiuos simbolius ir ženklus, be išvardytų standarte ISO 15223-1 (skirta JAV: naudojamų simbolių apibūdinimo ieškokite <https://usdiagnostics.roche.com>):

	Rinkinio turinys
	Tūris po atskiedimo arba maišymo
	Visuotinis prekybos identifikacijos numeris (angl. Global Trade Item Number)

Papildymai, naikinimai ar pakeitimai yra pažymėti pakeitimų juosta parašėje.

© 2016, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com



JAV platina:

Roche Diagnostics, Indianapolis, IN

JAV vartotojų techninė pagalba 1-800-428-2336