

UPOTREBA

Reagens se koristi za određivanje aktivnosti enzima alanin aminotransferaze (ALT) u serumu ili plazmi.

METODA

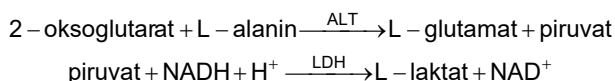
IFCC kinetički, spektrofotometrijski UV metod bez piridoksal-fosfata.

KLINIČKI ZNAČAJ

Enzim alanin aminotransferaza je uključen u metabolizam aminokiselina. Nalazi se u većini tkiva, ali ga najviše ima u tkivu jetre i bubrega. Do povećanja nivoa ALT-a u serumu dolazi kod oboljenja jetre kao što su hepatitis, mononukleoza, ciroza, kao i kod akutnog infarkta.

PRINCIP ODREĐIVANJA

Enzim ALT katalizuje reakciju transaminacije amino grupe sa alanina na 2-oksoglutarat, pri čemu nastaju piruvat i L-glutamat. Piruvat se dalje, u prisustvu koenzima NADH i uz katalitičko dejstvo LDH, redukuje do L- laktata¹⁻³. Brzina oksidacije NADH direktno je proporcionalna aktivnosti ALT.

**REAGENSI**

ALT, Ref: ALT-250 se sastoji od 2 reagensa:

Reagens 1 (Rg.1)	2 x 100 mL
Reagens 2 (Rg.2)	1 x 50 mL

SASTAV RADNOG REAGENSA

Aktivne komponente :

Tris pufer pH 7,5	100 mmol/L
L-alanin	0,5 mol/L
2-oksoglutarat	15 mmol/L
LDH	> 1,5 KU/L
NADH	> 0,28 mmol/L
Stabilizatori i konzervansi	

UPOZORENJE

1. Koristiti isključivo za dijagnostiku *in vitro*.
2. Voditi računa o propisanoj eliminaciji otpada. Ako se odbacuje u kanalizaciju, isprati velikom količinom vode.
3. Da bi se izbegla kontaminacija koristiti čist pribor ili laboratorijsku opremu za jednokratnu upotrebu.

PRIPREMA REAGENSA

Start uzorkom : radni reagens se priprema mesanjem 4 zapremine Rg.1 i jedne zapremine Rg.2.

Start supstratom : Reagensi su spremni za upotrebu.

STABILNOST REAGENSA

Start uzorkom : radni reagens stabilan je 30 dana ako se čuva na 2 - 8°C.

Start supstratom : reagensi u originalnom pakovanju su stabilni do isteka označenog roka ako se čuvaju na propisanoj temperaturi.

UZORCI

Kao uzorak koristiti nehemolizovan serum ili plazmu pripremljenu sa heparinom ili EDTA.

Stabilnost : 3 dana na 20-25 °C
7 dana na 4-8 °C
7 dana na -20 °C.

DODATNI POTREBNI MATERIJALI

Opšta laboratorijska oprema i rastvori

- Multikalibrator	Ref: KLB-012	4x3 mL
- Kontrolni serum N	Ref: KSN-020	4x5 mL
- Kontrolni serum P	Ref: KSP-020	4x5 mL

ANALITIČKA PROCEDURA

Analički parametri testa:

Talasna dužina : 1°/2°	340/405 nm
Kiveta :	1 cm
Temperatura :	37° C
Odnos : uzorak / reagens	1 / 10
Reakcija :	Kinetička
Inicijalna A reagensa :	> 1.0 Abs

Start uzorkom - pipetirati u epruvete:

Uzorak	100 µL
Radni reagens	1000 µL

Promešati reakcionu smešu i inkubirati 1 minut na 37°C, izmeriti inicijalnu apsorbanciju (A₀), a zatim meriti promene apsorbancija svakog minuta u toku tri minuta (A₁, A₂, A₃) na 340 nm.

Start supstratom - pipetirati u epruvete:

Uzorak	100 µL
Rg.1	800 µL

Promešati, a zatim dodati:

Rg.2	200 µL
------	--------

Promešati reakcionu smešu i inkubirati 1 minut na 37°C, izmeriti inicijalnu apsorbanciju (A₀), a zatim meriti promene apsorbancija svakog minuta u toku tri minuta (A₁, A₂, A₃) na 340 nm.

KALIBRACIJA

Za kalibraciju koristiti multikalibrator

Tip kalibracione krive : Linearan

Rekalibraciju vršiti :

- nakon promene serije reagensa
- ukoliko su dobijene vrednosti kontrola izvan prihvatljivog opsega

KONTROLA KVALITETA

Za kontrolu kvaliteta preporučuje se korišćenje kontrolnih seruma.

IZRAČUNAVANJE

$$\Delta A_1 = A_1 - A_0 \quad \Delta A_2 = A_2 - A_1 \quad \Delta A_3 = A_3 - A_2$$

$$\Delta A = (\Delta A_1 + \Delta A_2 + \Delta A_3) / 3$$

$$C = \Delta A \cdot 1746 \text{ (U/L)}$$

Navedena je teorijska vrednost faktora za izračunavanje. Preporuka je da se reagens kalibriše odgovarajućim kalibratorom.

REFERENTNE VREDNOSTI

Odrasli	30°C	37°C
Muškarci	< 29 U/L	< 40 U/L
Žene	< 22 U/L	< 31 U/L

Na referentne vrednosti utiču (pored drugih faktora) starosna struktura i etnički sastav populacije. Zato se preporučuje da svaka laboratorija odredi sopstvene referentne vrednosti.

ANALITIČKE KARAKTERISTIKE TESTA

Parametri validacije su izračunati na osnovu rezultata ispitivanja na analizatorima Roche 902 i Abbott –Alcion.

Opseg merenja

Od 4 do 420 U/L ALT-a.

Ukoliko je aktivnost ALT-a veća od 420 U/L razblažiti uzorak (1+ 9) sa fiziološkim rastvorom i rezultat pomnožiti sa 10.

Limit detekcije (LOD) i limit kvantifikacije (LOQ)

LoD = 1,3 U/L

LoQ = 4,0 U/L

Osetljivost određivanja (S)

S=A/c=0,57 ΔmAbs po U/L

Interferencije

Na određivanje ALT-a ne utiču sledeće supstance:

bilirubin	c < 800 μmol/L (46,8 mg/dL)
hemoglobin	c < 6,0 g/L
trigliceridi	c < 11,3 mmol/L (1000 mg/dL).

Preciznost određivanja

Reproducibilnost unutar serije

Uzorak 1	Xsr = 32,21	Sd = 1,31	KV = 4,07 %
Uzorak 2	Xsr = 135,14	Sd = 2,32	KV = 1,71 %

Reproducibilnost između serija

Uzorak 1	Xsr = 31,93	Sd = 1,33	KV = 4,16 %
Uzorak 2	Xsr = 135,36	Sd = 2,31	KV = 1,70 %

Korelacija

Urađena je komparativna analiza⁴ između metode firme BIOANALYTICA i komercijalnog testa druge firme na 45 uzorka humanog seruma. Dobijeni su sledeći parametri :

Linearna regresija

$$y = 0,9994 x + 0,2373$$

$$r = 0,9993$$

LITERATURA

1. H.U.Bergmeyer, M.Horder, Clin Chim Acta, 105, 147F-172F, 1980.
2. B. Štraus, Medicinska Biokemija, Medicinska naklada Zagreb, 1992.
3. N.W. Tietz, Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1986.
4. H. Passing, W.A. Bablok, A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part I.J Clin Chem and Clin Biochem 21(11), 709-720, 1983.



Bioanalytica d.o.o.
Agostina Neta 84/2, Beograd,
Srbija
www.bioanalytica.rs



Bioscience Medical SL
Velazquez 126, 7AB,
Madrid, Spain



Broj rešenja o upisu : _____