KÓD 11832 1 x 50 mL	KÓD 11533 1 x 200 mL	KÓD 11568 1 x 500 mL	KÓD 11562 1 x 1 L
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8ºC			
Reagencie pro měření koncentrace ALT/GPT Pouze pro laboratorní *in vitro* diagnostiku			

ALANIN AMINOTRANSFERÁZA (ALT/GPT)

BioSystems
REAGENTS & INSTRUMENTS

CE

PRINCIP METODY

Alanin aminotransferáza (ALT neboli GPT) katalyzuje přenos aminoskupiny z alaninu na 2-oxoglutarát, za vzniku pyruvátu a glutamátu. Katalytická koncentrace je určena poměrem úbytku NADH, k němuž dochází vlivem spřažené reakce s laktát dehydrogenázou (LDH). Úbytek se měří při 340 nm[1,2,3].

Alanin + 2 – Oxoglutarát $\xrightarrow{ALT}$ Pyruvát + Glutamát

Pyruvát + NADH + H^+ $\xrightarrow{MDH}$ Laktát + NAD^+

OBSAH

	KÓD11832	KÓD 11533	KÓD 11568	KÓD 11562
A. Reagencie	1 x 40 mL	1 x 160 mL	1 x 400 mL	1 x 800 mL
B. Reagencie	1 x 10 mL	1 x 40 mL	1 x 100 mL	1 x 200 mL

SLOŽENÍ

A. Reagencie: Tris 150 mmol/L, L-alanin 750 mmol/L, laktát dehydrogenáza > 1350 U/L, pH 7,3.

B. Reagencie: NADH 1,9 mmol/L, 2-oxoglutarát 75 mmol/L, hydroxid sodný 148 mmol/L, azid sodný 9,5 g/L

*Varování: **H302** – Zdraví škodlivý při požití. **EUH 031** – Uvolňuje toxický plyn při styku s kyselinami. **P301** + **P312** – PŘI POŽITÍ: Necítíte-li se dobře, volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO **P330** – Vypláchněte ústa.*

Pro další varování a doporučení – viz Karta bezpečnostních údajů (SDS).

SKLADOVÁNÍ

Skladujte při 2-8ºC. Reagencie a standard jsou stabilní do data expirace uvedené na štítku pokud jsou těsně uzavřené a je zabráněno jejich kontaminaci během jejich použití.

Známky zhoršení kvality:

Reagencie: přítomnost částic, zákal, absorbance blanku větší jak 1,400 při 340 nm. (měřeno v 1 cm kyvetě).

VAROVÁNÍ A OPATŘENÍ

Při manipulaci se všemi laboratorními činidly dodržujte obvyklá preventivní opatření. Pro profesionální uživatele je bezpečnostní list k dispozici na vyžádání. Likvidace veškerého odpadu by měla být provedena v souladu s místními směrnicemi. Jakákoli závažná událost, která by mohla nastat v souvislosti s testováním, musí být nahlášena BioSystems S.A.

DOPLŇUJÍCÍ REAGENCIE

C. Reagencie (kód 11666): Pyridoxal fosfát 10 mmol/L. 5 mL

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Pracovní reagencie: Kvantitativně přelejte obsah lahvičky B do lahvičky A. Důkladně promíchejte. Ostatní objemy lze připravit smícháním: 4 mL Reagencie A + 1 mL Reagencie B. Stabilita pracovního roztoku je 1 měsíc při 2-8ºC.

Pracovní reagencie s pyridoxalfosfátem (Poznámka 1): Smíchejte 10 ml pracovní reagencie + 0,1 ml Reagencie C (kód 11666). Stabilita pracovního roztoku je 6 dní při 2-8ºC.

PŘÍDAVNÁ ZAŘÍZENÍ

- Analyzátor, spektrofotometr nebo fotometr termostabilní při 37ºC a s filtrem 340 nm.
- kyveta 1 cm

VZORKY

Alanin aminotransferáza je v séru a plazmě stabilní 7 dní při 2-8ºC.
Jako antikoagulant použijte heparin nebo EDTA.

POSTUP

1. Vytemperujte pracovní reagencii na pracovní teplotu.
2. Pipetujte do označených zkumavek: (Poznámka 2):

Reakční teplota	37ºC
Pracovní reagencie	1,0 mL
Vzorek	50 µL

3. Promíchejte, nasajte do kyvety fotometru a zapněte stopky.
4. Po 1 minutě (Poznámka 1) odečtěte počáteční absorbanci a pak jí odečítejte v minutových intervalech po dobu 3 minut.
5. Vypočtěte rozdíl mezi následnými absorbancemi a průměrnou minutovou absorbancí (ΔA/min).

VÝPOČET

Koncentrace ALT/GPT ve vzorku se vypočítá podle vzorce:

$$\Delta A/min \times \frac{Vt \times 10^6}{\varepsilon \times l \times Vs} = U/L$$

Molární absorbance (ε) NADH při 340 nm je 6300, světelná dráha (l) je 1 cm, celkový reakční objem (Vt) je 1,05 při 37ºC, objem vzorku (Vs) je 0,05 při 37ºC a 1 U/L odpovídá 0,0166 µkat/L. Následující rovnice je pro výpočet katalytické koncentrace ALT:

	37ºC	30ºC
ΔA/min	x 3333 = U/L x 55,55 = µkat/L	x 1746 = U/L x 29,1 = µkat/L

REFERENČNÍ HODNOTY

Reakční teplota	37ºC
Bez pyridoxal-P, do[1,3]	41 U/L = 0,68 µkat/L
S pyridoxal-P, do[1,2]	65 U/L = 1,08 µkat/L

Tato rozpětí slouží pouze pro orientaci; každá laboratoř by si měla stanovit své vlastní referenční rozpětí.

KONTROLA KVALITY

Pro ověření správnosti měření se doporučuje použít biochemické kontrolní sérum hladiny I (kód. 18005, 18009 a 18042) a hladiny II (kód. 18007, 18010 a 18043).
Každá laboratoř by si měla stanovit svoji vlastní vnitřní kontrolu kvality a postupy pro nápravná jednání, jestliže kontroly nejsou v tolerančním rozpětí.

METROLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA

- Detekční limit: 1,6 U/L = 0,027 µkat/L
- Linearita: 800 U/L = 13,3 µkat/L. Při vyšších hodnotách zřeďte vzorek 1/10 destilovanou vodou a opakujte měření.
- Opakovatelnost (within run):

Průměrná koncentrace	CV	n
43 U/L = 0,72 µkat/L	1,8 %	20
192 U/L = 3,2 µkat/L	2,8 %	20

- Reprodukovatelnost (run to run):

Průměrná koncentrace	CV	n
43 U/L = 0,72 µkat/L	5,3 %	25
192 U/L = 3,2 µkat/L	2,7 %	25

- Citlivost: 0,3 ΔmA·L/U·min = 0,00502 ΔmA·L/µkat·min
- Správnost: Výsledky získané touto soupravou nevykazovaly systematické rozdíly při porovnání s referenčními reagenty. Podrobnosti o porovnávací zkoušce jsou k dispozici na vyžádání.
- Interference: Hemolýza (hemoglobin 10g/L) a bilirubin (20 mg/dL) neinterferují. Lipemie (triglyceridy 2 g/L) může způsobit falešné výsledky. Některé léky a látky mohou interferovat[4].

Tyto metrologické charakteristiky byly získány na analyzátoru. Výsledky se mohou lišit při použití různých analyzátorů, nebo při manuální metodě.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

ALT katalyzuje tvorbu kyseliny glutamové z 2-oxoglutarátu, přenosem amino skupiny. ALT je přítomna v různých tkáních, ale největší koncentrace jsou v játrech a ledvinách.

Sérové koncentrace ALT jsou zvýšené při hepatitidě a ostatních druzích jaterního onemocnění spojených s nekrózami: infekční mononukleóza, cholestáza, cirhoza,

metastatické karcinomy jater, delirium tremens a po požití různých léků jako jsou opiáty, salicyláty nebo ampicilin[5,6].
Koncentrace ALT v séru mohou být také zvýšené při svalovém skeletálním onemocnění nebo při onemocnění srdečního svalu[5,6].
Klinická diagnóza by však neměla být uzavřena jen na základě tohoto výsledku, ale měly by být propojeny klinické a laboratorní výsledky.

POZNÁMKY

1. IFCC metoda doporučuje pro zpřesnění přidání pyridoxal fosfátu. Čas prodlevy před měřením by neměl být vyšší jak 2 minuty.
2. Tato reagencie může být použita v různých analyzátorech. Aplikační protokoly jsou k dispozici u distributora.

LITERATURA

1. Sociedad Española de Química Clínica, Comité Científico, Comisión de Enzimas. Metódo recomendado para la determinación en rutina de la concentración catalítica de la alanina aminotransferasa en suero sanguíneo humano. *Quim Clin* 1987; 6: 241-244.
2. Approved Recommendation (1985) on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes. Part 3: IFCC Method for Alanine Aminotransferase (EC 2.6.1.2). *J. Clin Chem Clin Biochem* 1986; 24: 481-495.
3. Gella FJ, Olivella T, Cruz Pastor M, Arenas J, Moreno R, Durban R and Gómez JA. A simple procedure for routine determination of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase with pyridoxal phosphate. *Clin Chim Acta* 1985; 153: 241-247.
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.
6. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4nd ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co., 2005.
7. Word Health Organization (WHO). Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations. Document WHO/DIL/LAB/99.1, Rev.2; 2002.

UPOZORNĚNÍ

Překlad revidován k datu: 29.4.2020
Vzhledem k možné inovaci výrobku Vám doporučujeme překontrolovat český překlad s originálním příbalovým letákem porovnáním podle identifikačního čísla návodu uvedeném v zápatí.
Originální návod najdete v soupravě a na internetové adrese: www.biosystems.es.
Český návod je k dispozici na: www.jktrading.cz

Výhradní distributor:
ČR : JK-Trading spol.s.r.o., Křivatcová 421/5,150 21 Praha5, tel.: +420 257 220 760
SK : JK-Trading spol.s.r.o., Dlhá 43, 900 31, Stupava, tel.: + 421 264 774 591

V případě mimořádných událostí:
ČR : Toxikologické informační středisko (TIS), klinika pracovního lékařství VFN a .LF UK, tel.: +420 224 91 92 93 a +420 224 91 54 02
SK : Toxikologické informačné centrum Bratislava, 833 05, Limbová 5, tel.: +421 254 774 166