

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 2-8°C			
Reagenty pro měření koncentrace ALT/GPT Pouze pro laboratorní <i>in vitro</i> diagnostiku			



ALANIN

AMINOTRANSFERÁZA

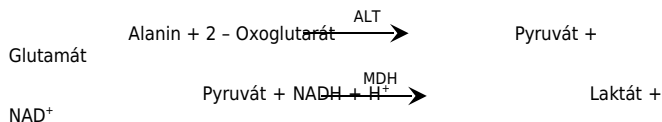
(ALT/GPT)



IFCC

PRINCIP METODY

Alanin aminotransferasa (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 spříazené reakce s laktát dehydrogenázou (LDH). Úbytek je měřen při 340 nm^{1,2,3}.



Obsah

	KÓD 11832	KÓD 11533	KÓD 11568	KÓD 11562
A. Reagent	1 x 40 mL	1 x 160 mL	1 x 400 mL	1 x 800 mL
B. Reagent	1 x 10 mL	1 x 40 mL	1 x 100 mL	1 x 200 mL

Složení

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

B. Reagent: NADH 1,3 mmol/L, 2-oxoglutarát 75 mmol/L, hydroxid sodný 148 mmol/L, azid sodný 9,5 g/L

Škodlivý (Xn): R22 Škodlivý při požití. R31: Při kontaktu s kyselinami vyvíjí toxické plyny. S28.1: V případě zasažení očí nebo potřísnění pokožky, omyjte postižené místo pod tekoucí vodou. S45: V případě nehody, nebo když se necítíte v pořádku, vyhledejte lékařskou pomoc.

SKLADOVÁNÍ

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

Známky zhoršení kvality:

Reagent: přítomnost částic, zákal, absorbance blanku větší jak 1,2 při 340 nm. (1 cm kvjeta).

DOPLŇUJÍCÍ REAGENCIE

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

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Pracovní reagent: Kvantitativně přelejte obsah lahvičky B do lahvičky A. Důkladně promíchejte. Ostatní objemy lze připravit smícháním: 4 mL Reagentu A + 1 mL Reagentu B. Stabilita pracovního roztoku je 2 měsíce při 2-8°C.

Pracovní reagent s pyridoxalfosfátem (Poznámka 1): Smíchejte 10 ml pracovního reagentu + 0,1 ml Reagentu C (kód 11666). Stabilita pracovního roztoku je 6 dní při 2-8°C.

PŘÍDAVNÁ ZAŘÍZENÍ

■ Analyzátor, spektrofotometr nebo fotometr termostabilní při 30 nebo 37°C a s filtrem 340 nm.

■ kvjeta s 1 cm světelnou cestou.

VZORKY

Serum odebrané standardním způsobem. ALT je v séru stabilní 7 dní při 2-8°C.

POSTUP

1. Vytemperujte pracovní reagent na pracovní teplotu.

2. Pipetujte do označených zkumavek: (Poznámka 2):

Reakční teplota	37°C	30°C
Pracovní reagent	1,0 mL	1,0 mL
Vzorek	50 µL	100 µL

3. Promíchejte, nasajte do kvjety fotometru a zapněte stopky.

4. Po 1 minutě (Poznámka 1) odečtete počáteční absorbanci a pak jí odečítejte v minutových intervalech po dobu 3 minut.

5. Vypočítejte rozdíl mezi následnými absorbancemi a průměrnou minutovou absorbancí ($\Delta A/\text{min}$).

VÝPOČET

Koncentrace ALT/GPT ve vzorku se vypočítá podle vzorce:

$$Vt \times 10^6$$

$$\epsilon \times l \times VS$$

M11531i-0317

$$\Delta A/\text{min} \times \text{_____} = \text{U/L}$$

Molární absorbance (ϵ) NADH při 340 nm je 6300, světelná dráha (l) je 1 cm, celkový reakční objem (Vt) je 1,05 při 37°C a 1,1 při 30°C, objem vzorku (Vs) je 0,05 při 37°C a 0,1 při 30°C a 1 U/L odpovídá 0,0166 $\mu\text{kat/L}$. Následující rovnice je pro výpočet katalytické koncentrace ALT:

	37°C	30°C
$\Delta A/\text{min}$	$\times 3333 = \text{U/L}$ $\times 55,55 = \mu\text{kat/L}$	$\times 1746 = \text{U/L}$ $\times 29,1 = \mu\text{kat/L}$

REFERENČNÍ HODNOTY

Reakční teplota	37°C	30°C
Bez pyridoxal-P, do ^{1,3}	41 U/L = 0,68 $\mu\text{kat/L}$	29 U/L = 0,48 $\mu\text{kat/L}$
S pyridoxal-P, do ^{1,2}	65 U/L = 1,08 $\mu\text{kat/L}$	35 U/L = 0,58 $\mu\text{kat/L}$

Koncentrace u novorozenců a malých dětí jsou vyšší než u dospělých. Hodnoty u mužů jsou lehce vyšší než u žen. Uvedené hodnoty jsou pouze orientační. Každá laboratoř by si měla stanovit své vlastní srovnávací hodnoty.

KONTROLA KVALITY:

Pro ověření správnosti měření se doporučuje použít biochemické kontrolní sérum hladiny I (kód. 18005 a 18009) a hladiny II (kód. 18007 a 18010).

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 $\mu\text{kat/L}$

– Linearita: 500 U/L = 8,33 $\mu\text{kat/L}$. Při vyšších hodnotách zředte vzorek 1/10 destilovanou vodou a opakujte měření.

– Opakovatelnost (within run):

Průměrná koncentrace	CV	n
43 U/L = 0,72 $\mu\text{kat/L}$	1,8 %	20
192 U/L = 3,2 $\mu\text{kat/L}$	2,8 %	20

– Reprodukovatelnost (run to run):

Průměrná koncentrace	CV	n
43 U/L = 0,72 $\mu\text{kat/L}$	5,3 %	25
192 U/L = 3,2 $\mu\text{kat/L}$	2,7 %	25

– Citlivost: 0,3 $\Delta\text{mA}\cdot\text{L}/\text{U}\cdot\text{min} = 0,00502 \Delta\text{mA}\cdot\text{L}/\mu\text{kat}\cdot\text{min}$

– 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) a může způsobit falešné výsledky. Některé léky a látky mohou interferovat⁴.

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. Tento reagent může být použitý v různých analyzátoch. Aplikační protokoly jsou k dispozici na: www.jktrading.cz

LITERATURA

KOD 11832 1 x 50 mL	KOD 11533 1 x 200 mL	KOD 11568 1 x 500 mL	KOD 11562 1 x 1 L
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C			
Reagenty pro měření koncentrace ALT/GPT Pouze pro laboratorní <i>in vitro</i> diagnostiku			



ALANIN

AMINOTRANSFER

ÁZA

(ALT/GPT)



IFCC

1. Sociedad Española de Química Clínica, Comité Científico, Comisión de Enzimas. Método 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, 3th ed. AACC Press, 1997.
5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
6. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994.

UPOZORNĚNÍ

Překlad pořízen k datu: 17.9.2004

Vzhledem k možné inovaci výrobku Vám doporučujeme překontrolovat český překlad s originálním příbalovým letákem. Více informací naleznete na internetové adrese: www.biosystems-sa.com nebo na adrese výhradního distributora pro ČR: www.jktrading.cz