

ALT (GPT) Reagenz

Alanin-Aminotransferase

KURZBESCHREIBUNG DES PRODUKTS

Stabilität	: 50 Tage bei 2-8°C
Linearer Bereich	: bis zu 450 U/L
Probe Typ	: Serum
Methode	: Kinetische UV
Reagenz-Vorbereitung	: Hinzufügen der angegebenen Menge destillierten oder deionisierten Wassers

IVD

VERWENDUNGSZWECK

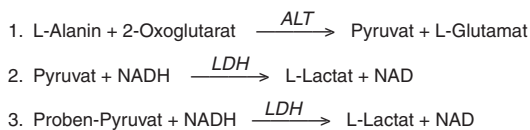
Dieses Reagenz ist für die quantitative In-Vitro-Bestimmung von ALT (L-Alanin:2-Oxoglutarat Aminotransferase EC2.6.1.2) in menschlichem Serum bestimmt.

KLINISCHE BEDEUTUNG

ALT kommt in hohen Konzentrationen in der Leber und in geringerem Ausmaß in den Nieren, Herz- und skeletalen Muskeln, Pankreas, Milz und Lungen vor. Erhöhte ALT-Werte sind jedoch generell das Ergebnis einer Erkrankung der Leber im Zusammenhang mit hepatischer Nekrose wie z.B. Zirrhose, Karzinom, viraler oder toxischer Hepatitis und obstruktiver Gelbsucht. Charakteristisch ist ALT im allgemeinen höher als AST bei akuter viraler oder toxischer Hepatitis, wohingegen die meisten Patienten mit chronischer Lebererkrankung im allgemeinen niedrigere ALT-Werte als AST-Werte haben. Erhöhte ALT-Werte wurden auch bei extensiven traumatischen Verletzungen und Muskelerkrankungen, Kreislaufversagen mit Schock, Hypoxie, Herzinfarkt und hämolytischer Krankheit festgestellt.¹

METHODE

Wroblewski und LaDue² haben die erste Methode zur Bestimmung von ALT unter Verwendung von LDH und NADH beschrieben. Diese Methode wurde später von Henry³ und Bergmeyer⁴ zur Optimierung von Substratbedingungen und Eliminierung von Nebenreaktionen verändert. Diese Methode bildet nun die Grundlage für viele national und international empfohlene Prozeduren. Das ALT Reagenz basiert auf den Empfehlungen des IFCC⁵. Die Reaktionsfolge des Testsystems verläuft wie folgt:



- Die Aminogruppe wird durch das in der Probe vorhandene ALT von Alanin zum Kohlenatom von 2-Oxoglutarat enzymatisch übertragen, wobei Pyruvat und L-Glutamat entsteht.
- Pyruvat wird durch im Reagenz vorhandenes LDH bei gleichzeitiger Oxidierung von NADH zu NAD zu Lactat reduziert. Die Reaktion wird beobachtet, indem der Grad, in dem das Absorptionsvermögen bei 340nm aufgrund der Oxidierung von NADH abnimmt, gemessen wird.
- Endogenes Probenpyruvat wird durch Lactat-Dehydrogenase (LDH) während der anfänglichen Inkubationszeit rapide und vollständig reduziert, so dass es das Testergebnis nicht beeinträchtigt.

REAGENZZUSAMMENSETZUNG

Aktive Bestandteile	Konzentration
L-Alanin	440 mmol/L
NADH	> 0,18 mmol/L
LDH (mikrobisch)	> 1820 U/L
2-Oxoglutarat	16,5 mmol/L
Tris-Puffer	88 mmol/L

Enthält auch nichtreaktive Füllstoffe und Stabilisatoren.
pH 7,50 ± 0,1 at 20°C.

WARNUNG: Nicht Einnehmen! Kontakt mit Augen und Haut vermeiden! Im Falle des Verschüttens die betroffenen Flächen gründlich mit Wasser waschen. Das Reagenz enthält Natriumazid und kann deshalb mit kupfer- oder bleihaltigen Leitungen reagieren. Wir empfehlen, nach dem Weggießen mit viel Wasser nachzuspülen. Für zusätzliche Informationen konsultieren Sie bitte das Material- und Sicherheitsdatenblatt mit dem Titel "ALT(GPT)-Reagenz". Die Verpackung dieses Produkts enthält trockenen Naturkautschuk. Vorsicht beim Umgang mit Falzungen und zerbrochenen Glasspholen, da scharfe Kanten zu Verletzungen führen können.

R22 Gesundheitsschädlich beim Verschlucken.
S28 Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Seife und Wasser.

SYMBOLE PRODUKTBEZEICHNUNG

EC REP	Autorisierter Vertreter		Temperaturbeschränkung
IVD	Für in vitro Diagnostik		Verfallsdatum
LOT	Batch Code / Losnummer		VORSICHT. Siehe Benutzungsvorschriften
REF	Katalognummer		Hergestellt von
	Siehe Benutzungsvorschriften		Xn - Gesundheitsschädigend

REAGENZVORBEREITUNG

Bereiten Sie die Reagenzlösung vor, indem Sie die auf der Flasche angegebene Menge destillierten bzw. deionisierten Wassers hinzufügen.

STABILITÄT UND LAGERUNG

Vor der Benutzung:

Bei gekühlter Lagerung bei einer Temperatur von 2-8 °C ist das Reagenz bis zu dem auf der Flasche und Testschachtel angegebenen Verfallsdatum stabil.

Rekonstituiertes Reagenz:

Das Reagenz ist bei verschlossener Lagerung in 2-8°C für wenigstens 50 Tage stabil.

Indikationen einer Verschlechterung des Reagenz:

- Trübung
- Absorptionsvermögen <1,1 bei 340 nm (1 cm);und/oder
- Beobachtete Kontrollwerte sind außerhalb des erlaubten Bereichs.

PROBENSAMMLUNG UND HANDHABUNG

Serum: nicht-hemolysiertes Serum verwenden.

Plasma: Nicht empfohlen.⁵

Aufbewahrung: Serumproben können bei Raumtemperatur (18-25°C) für wenigstens 3 Tage und bei 4°C für wenigstens eine Woche aufbewahrt werden.⁶

ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT GELIEFERTER AUSRÜSTUNG

- Klinisches Chemie-Messgerät, das eine konstante Temperatur (37°C) sowie ein Mess-Absorptionsvermögen von 340 nm beibehalten kann.
- Gerätespezifische Materialien, z.B. Probebehälter, usw.
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser für die Aufbereitung des Reagenz und entsprechende Hilfsgeräte (z.B. Pipette).
- Bereits gemessenes, normales und abnormales Kontrollmaterial

TESTVERFAHREN (ASSAY VERFAHREN/PROZEDUR)

Die folgenden Testparameter werden empfohlen: Einzelne Anwendungen des Instruments können auf Anfrage von der Technischen Unterstützungsgruppe erhalten werden.

TESTPARAMETER

Temperatur	30/37°C
Wellenlänge	340 nm
Test Typ	Anteil/Kinetisch
Richtung	Abnahme
Probe : Reagenz ratio	1:10
eg: Probe Volumen	30 µL
Reagenz Volumen	300 µL
Verzögerung/Lag	60 Sekunden
Lesezeit	60 Sekunden
Reagenz-Blindprobe	niedrig 1,1 AU
(1cm lightpath, 340nm)	Hoch 2,0 AU
Linearität	0 - 450 U/L
(siehe Abschnitt Linearität)	
Sensitivität	0,57 ΔmA pro U/L
(1cm Lichtweg, 340nm)	

BERECHNUNGEN

Die Resultate werden - normalerweise automatisch vom Instrument - wie folgt berechnet:

Aktivität in U/L = ΔAbs/min x Faktor

$$\text{Faktor} = \frac{\text{TV} \times 1000}{6,3 \times \text{SV} \times \text{P}}$$

Wobei:

- TV = Gesamte Reaktionsmenge in mL
SV = Probemenge in mL
6,3 = millimolarer Absorptionskoeffizient von NADH bei 340nm
(Siehe Anmerkung 4).
P = Küvetten-Weglänge in cm.

Beispiel:

- Δ Abs/min = 0,10
Faktor = 1746
ALT = 0,10 x 1746 = 175 U/L

BEMERKUNGEN

- Die Reagenz- und Probenmengen können proportional geändert werden, um sie verschiedenen Photospektrometern anzupassen.
- Falls das Absorptionsvermögen sich um mehr als 0,26/min verändert, wiederholen Sie den Test mit einer kleineren Probe bzw. verdünnen Sie mit Salzlösung. Denken Sie daran, den Faktor für die kleinere Menge zu verändern bzw. das Endresultat mit dem Verdünnungsfaktor zu multiplizieren.
- Gültige Resultate hängen vom genau kalibrierten Instrument, sowie akkurater Zeitnahme und Temperaturkontrolle ab.
- Der millimolare Absorptionskoeffizient für NADH bei 334nm = 6,18 und bei 365nm = 3,40.
- Einheitsumrechnung: U/L x 16,67 x 10⁻³ = μ kat/L

KALIBRIERUNG

Nicht erforderlich. Der Reaktionsgrad wird mittels Berechnungsfaktor zu U/L -Aktivität umgerechnet. Siehe Abschnitt über Berechnungen dieser Packungsbeilage.

QUALITÄTSKONTROLLE

Um eine angemessene Qualitätskontrolle sicherzustellen, sollten bekannte (gemessene) normale und abnormale Proben zusammen mit den unbekanntem Proben getestet werden:

- Mindestens alle acht Stunden.
 - Beim Gebrauch einer neuen Reagenzflasche.
 - Nach Wartung oder nach dem Austausch einer wichtigen Komponente.
- Kontrollresultate, die außerhalb der niedrigen oder hohen Grenzwerte des normalen Bereichs fallen, deuten darauf hin, dass der Test ungültig ist. Für solche Situationen empfehlen wir die folgenden korrektiven Maßnahmen:
- Wiederholen Sie dieselben Kontrollen
 - Falls die erneuten Kontrollwerte außerhalb der Grenzwerte liegen, bereiten Sie frisches Kontrollserum vor und wiederholen Sie den Test.
 - Falls die Resultate frischen Kontrollmaterials immer noch außerhalb der Grenzwerte liegen, wiederholen Sie den Test mit frischem Reagenz.
 - Falls die Resultate immer noch außerhalb der normalen Werte liegen, wenden Sie sich an den Technischen Kundendienst oder Ihren lokalen Händler.

BESCHRÄNKUNGEN

- Interferenzstudien für Hämoglobin, Bilirubin, Pyruvat und Lipämie wurden mit folgenden Resultaten durchgeführt:
Hämoglobin: Keine Interferenz von Hämoglobin bis zu 1000 mg/dL.
Bilirubin: Keine Interferenz von Bilirubin bis zu 1000 μ mol/L (60 mg/dL).
Pyruvat: Keine Interferenz von Pyruvat bis zu 1,25 mmol/L.
Lipämie: Keine Interferenz von Lipämie, als Triglyzeride gemessen, bis zu 10,7 mmol/L (950 mg/dL).
- Hämolytierte Serumproben sollten nicht verwendet werden. Die ALT-Aktivitätswerte in Erythrozyten sind etwa siebenmal höher als in Seren.⁷
- Young DS⁹ hat eine umfassende Liste der beeinträchtigenden Wirkstoffe und Substanzen veröffentlicht.

ERWARTETE WERTE⁹

- Bei 37°C Erwachsene: 10 - 35 U/L
Neugeborene/Säuglinge*: 7 - 40 U/L

Die angegebenen Werte sind stellvertretend für den erwarteten Wertebereich bei dieser Methode und sollten nur als Richtlinie gelten. Es wird empfohlen, dass jedes Labor diesen Bereich verifiziert oder für die von ihm betreute Bevölkerungsgruppe ein Referenzintervall ableitet.¹⁰

* Diese Werte wurden nicht überprüft.

LEISTUNGSDATEN

Die folgenden Daten wurden mithilfe des ALT (GPT) Reagenz auf einem sich in gutem Zustand befindlichen automatischen klinischen Analysegerät erhalten. Benutzer sollten die Produktleistung für ihr spezifisches Analysegerät festlegen.

UNGENAUIGKEIT

Innerhalb des Testlaufs:	Stufe I	Stufe II
Zahl d. Daten Punkte	20	20
Durchschnitt(U/L)	24,3	105
SD (U/L)	0,37	0,67
CV (%)	1,52	0,64

Zwischen Tag

	Stufe I	Stufe II
Zahl d. Daten Punkte	20	20
Durchschnitt (U/L)	24,0	103
SD (U/L)	1,16	3,00
CV (%)	4,83	2,91

EXAKTHEIT (GENAUIGKEIT)

Es wurden mittels eines ähnlichen im Handel erhältlichen Reagenz Vergleichsstudien durchgeführt. Serumproben wurden parallel getestet und die Ergebnisse mittels der Methode der kleinsten Quadrate verglichen. Es entstand die folgende Statistik.

Zahl der Probenpaare	60
Bereich der Proben	4 - 617 U/L
Durchschnitt der Referenzmethode s	88 U/L
Durchschnitt der ALT (GPT) Resultate	84 U/L
Steigung	0,991
Schnittpunkt	-3,1 U/L
Korrelations-Koeffizient	0,999

LINEARITÄT

Bei empfohlener Durchführung ist der Test bis zu 450 U/L (7,5 μ kat/L).

SENSITIVITÄT

Bei empfohlener Durchführung beträgt die Sensitivität dieses Tests 0.57 Δ mA/min pro U/L.

LITERATURHINWEISE

- Zilva JF, Pannall PR. "Plasma Enzymes in Diagnosis" in Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment. Lloyd-Luke London. 1979; Chap 17:338.
- Wroblewski F, LaDue JS. Proc Sec Exp Biol and Med 1956; 34:381.
- Henry RJ, et al. Am Jnl Clin Path 1960; 34:381.
- Bergmeyer HU, et al. Clin Chem 1978; 24:58-73.
- IFCC Expert Panel on enzymes Part 3. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 1986; 24:481-95.
- Murray RL. "Alanine aminotransferase" in Clinical Chemistry. Theory, analysis and correlation. Kaplan LA, Pesce AJ (Eds), CV Mosby St Louis 1984:1090.
- Burtis CA, Ashwood ER, "Tietz textbook of Clinical Chemistry" Second Edition, 1994; 795.
- Young DS, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition. 1990: 3:6-12.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Burtis CA and Ashwood ER (Eds). Second Edition, WB Saunders Company, 1994; 2177.
- Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.

© 2009 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.



Fisher Diagnostics
a division of Fisher Scientific Company, LLC
a part of Thermo Fisher Scientific Inc.
Middletown, VA 22645-1905 USA
Phone: 800-528-0494
540-869-3200
Fax: 540-869-8132



MDCI Ltd.
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing, West Sussex BN11 1SL UK



REF

Nachbestellinformation

Katalog Nr.	Konfiguration
1160-200	20 x 10 mL
TR18515	20 x 20 mL
TR18503/1160-500	10 x 50 mL
TR18504	10 x 200 mL