

Infinity™ ALT (GPT) Reagenz**

KURZBESCHREIBUNG DES PRODUKTS

Stabilität	:12 Monate 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.

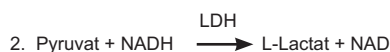
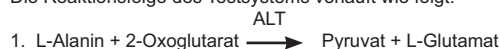
KLINISCHE BEDEUTUNG

ALT kommt in hohen Konzentrationen in der Leber und in geringerem Ausmaß in den Nieren, Herz- und skelettalen 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 Infinity 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 (vor der Rekonstituierung)

Aktive Bestandteile	Konzentration
2-Oxoglutarat	13 mmol/L
L-Alanin	440 mmol/L
NADH	0.26 mmol/L
LDH (mikrobisch)	>3000 U/L
Tris-Puffer	97 mmol/L
EDTA	5.0 mmol/L

pH 7.80 ± 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 weitere Informationen konsultieren Sie das Material- und Datensicherheitsblatt mit dem Titel "Infinity ALT(GPT)".

SYMBOLS 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

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

REAGENZVORBEREITUNG

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

STABILITÄT UND LAGERUNG

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 für mindestens 12 Monate bzw. bis zum Verfallsdatum, je nachdem, was zuerst eintrifft, stabil, sofern es bei 2-8 °C verschlossen aufbewahrt wird. Es wird empfohlen, das Reagenz zu verschließen und gekühlt bei 2-8°C zu lagern, falls es für längere Zeit (z.B. über Nacht) nicht verwendet wird.

Indikationen einer Verschlechterung des Reagenz:

- Trübung
- Absorptionsvermögen <1.0 bei 340 nm (1 cm);und/oder
- Beobachtete Kontrollwerte sind außerhalb des erlaubten Bereichs.

PROBENSAMMLUNG UND HANDHABUNG

Serum: nicht-hemolysiertes Serum verwenden
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 GELIEFERTE 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	37°C
Primäre Wellenlänge	340 nm (334, 365nm)
Sekundäre Wellenlänge	405 nm
Test Typ	Anteil/Kinetisch
Richtung	Abnahme
Probe : Reagenz ratio	1:10 - 1:20
eg: Probe Volumen	30 µL
Reagenz Volumen	300 µL
Verzögerung/Lag	30 Sekunden
Lesezeit	1 bis 3 Minuten
Reagenz-Blindprobe	niedrig 1.00 AU
(1cm Lichtweg, 340nm)	Hoch 2.50 AU
Linearität	450 U/L
(siehe Abschnitt Linearität)	
Sensitivität	0.573 ΔmA pro U/L
(1cm Lichtweg, 340nm)	

BERECHNUNGEN

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

Aktivität in U/L = $\Delta\text{Abs}/\text{min} \times \text{Faktor}$

$$\text{Faktor} = \frac{\text{TV} \times 1000}{6.3 \times \text{SV} \times \text{P}}$$

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:

$\Delta\text{Abs}/\text{min}$ = 0.08
Faktor = 1746
ALT = $0.08 \times 1746 = 140 \text{ U/L}$

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: $\text{U/L} \times 16.67 \times 10^{-3} = \mu\text{kat/L}$

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

- Das Reagenz enthält LDH zur rapiden Reduzierung von endogenem Probenpyruvat während der anfänglichen Inkubationszeit. Abnormal hohe Pyruvatwerte können zu falschen hohen Resultaten führen (Der normale Wert für Serumpyruvat liegt bei 0.03 bis 0.10 mmol/L⁷).
- Studien zur Bestimmung der Interferenz von Bilirubin (frei & konjugiert), Hämoglobin und Lipämie wurden mithilfe von im Handel erhältlichen Interferenzprüfungs-Produkten mit den folgenden Ergebnissen durchgeführt:

Hämoglobin: Keine Interferenz von Hämoglobin bis zu einem Wert von 500mg/dL.
Freies Bilirubin: Keine Interferenz von freiem Bilirubin bis zu einem Wert von 260 $\mu\text{mol/L}$ (15mg/dL).

Konjugiertes Bilirubin: Keine Interferenz von konjugiertem Bilirubin bis zu einem Wert von 116 $\mu\text{mol/L}$ (6.8mg/dL).

Lipämie: Keine Interferenz von Lipämie, als Absorptionsvermögen bei 630nm gemessen, bis zu 1.68AU.

- Young DS⁸ hat eine umfassende Liste der beeinträchtigenden Wirkstoffe und Substanzen veröffentlicht.⁹

ERWARTETE WERTE⁷

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.⁹

LEISTUNGSDATEN

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

UNGENAUIGKEIT

Die Abweichungen wurden mittels eines zweistufigen Kontrollsystems und gemäß der NCCLS EP5-T Prozedur ausgewertet.¹⁰

	Stufe I	Stufe II
Durchschnitt(U/L)	35	121
CV (%) Innerhalb des Testlaufs	2.0	0.7
CV (%) Total	2.3	1.0

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	78
Bereich der Proben	4 - 238 U/L
Durchschnitt der Referenzmethode s	28 U/L
Durchschnitt der Infinity ALT (GPT) Resultate	26 U/L
Steigung	0.95
Schnittpunkt	0.00 U/L
Korrelations-Koeffizient	0.999

LINEARITÄT

Bei empfohlener Durchführung ist der Test bis zu 450 U/L bei einem SV:RV Verhältnis von 1:20 linear.

Die Linearität von automatischen Instrumenten hängt vom Verhältnis zwischen verwendeter Probe- und Reagenzmenge sowie der zeitlichen Koordinierung der Messungen ab. Bitte befolgen Sie die Anwendungsvorschriften für das spezifische Instrument.


SENSITIVITÄT

Bei empfohlener Durchführung beträgt die Sensitivität dieses Tests 0.573 $\Delta\text{mA}/\text{min}$ 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.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Burtis CA and Ashwood ER (Eds). Second Edition, WB Saunders Company, 1994.
- Young DS, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition. 1990: 3:6-12.
- Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. NCCLS, 1984, NCCLS Publication EP5-T.

© 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





Nachbestellinformation

Katalog Nr.
TR71021

Konfiguration
2 x 125 mL