

ALAT (GPT) FS* (IFCC mod.)

mit/ohne Pyridoxal-5-Phosphate FS (P-5-P) (Pyridoxal-5-Phosphat FS)

Bestellinformation

Bestell-Nr.	Packungsgröße	
1 2701 99 10 021	R1 5 x 20 mL	+ R2 1 x 25 mL
1 2701 99 10 026	R1 5 x 80 mL	+ R2 1 x 100 mL
1 2701 99 10 023	R1 1 x 800 mL	+ R2 1 x 200 mL
1 2701 99 10 704	R1 8 x 50 mL	+ R2 8 x 12,5 mL
1 2701 99 10 917	R1 8 x 60 mL	+ R2 8 x 15 mL
1 2701 99 90 314	R1 10 x 20 mL	+ R2 2 x 30 mL
Zur Bestimmung mit P-5-P zusätzlich benötigt:		
2 5010 99 10 030	6 x 3 mL	

Verwendungszweck

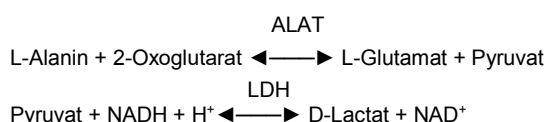
Diagnostisches Reagenz zur quantitativen in vitro Bestimmung von ALAT (GPT) in Serum und Plasma an photometrischen Systemen.

Zusammenfassung

Alaninaminotransferase (ALAT/ALT), früher Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) genannt, und Aspartataminotransferase (ASAT/AST), früher Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) genannt, sind die wichtigsten Vertreter einer Gruppe von Enzymen, die Aminotransferasen oder Transaminasen, die die Umwandlung von α -Ketosäuren zu Aminosäuren durch die Übertragung einer Aminogruppe katalysieren. Als spezifisches Leberenzym ist ALAT nur bei hepatobiliären Erkrankungen signifikant erhöht. Erhöhte ASAT-Werte aber können sowohl mit Erkrankungen der Herz- und Skelettmuskulatur als auch des Leberparenchyms zusammenhängen. Parallele Bestimmungen von ALAT und ASAT werden deshalb zur Unterscheidung zwischen Leber- und Herz-/ Muskelschäden durchgeführt. Der ASAT/ALAT-Quotient wird zur Differentialdiagnose bei Lebererkrankungen herangezogen. Während ein Quotient < 1 auf einen leichten Leberschaden hinweist, treten Quotienten > 1 bei schweren, oft chronischen Lebererkrankungen auf. [1,2]

Methode

Optimierter UV-Test nach IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) [modifiziert]



Der Zusatz von Pyridoxal-5-Phosphat (P-5-P), von IFCC empfohlen, stabilisiert die Aktivität der Transaminasen und vermeidet falsch niedrige Werte in Proben die zu wenig endogenes P-5-P enthalten, wie z.B. bei Patienten mit Myokardinfarkt, Lebererkrankungen und Intensivpatienten [1,3]

Reagenzien

Bestandteile und Konzentrationen

R1:	TRIS	pH 7,15	140 mmol/L
	L-Alanin		700 mmol/L
	LDH (Lactatdehydrogenase)		≥ 2300 U/L
R2:	2-Oxoglutarat		85 mmol/L
	NADH		1 mmol/L
Pyridoxal-5-Phosphat FS			
	Good's Puffer	pH 9,6	100 mmol/L
	Pyridoxal-5-phosphate		13 mmol/L

Lagerung und Haltbarkeit der Reagenzien

Die Reagenzien sind bei $2 - 8^\circ\text{C}$ bis zum Ende des auf der Packung angegebenen Verfallsmonats verwendbar, wenn Kontamination vermieden wird. Reagenzien nicht einfrieren und lichtgeschützt aufbewahren.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Die Reagenzien enthalten Natriumazid ($0,95\text{ g/L}$) als Konservierungsmittel. Nicht verschlucken! Berührung mit Haut und Schleimhäuten vermeiden
- Reagenz 1 enthält tierisches Material. Behandeln Sie das Produkt als potentiell infektiös gemäß allgemein anerkannter Vorsichtsmaßnahmen und guter Laborpraxis.
- In sehr seltenen Fällen kann es bei Proben von Patienten mit Gammopathien zu verfälschten Ergebnissen kommen [4].
- Sulfasalazin- und Sulfapyridin Medikation kann in Patientenproben zu falschen Ergebnissen führen. Die Blutentnahme muss vor der Arzneimittelverabreichung erfolgen.
- Beachten Sie bitte die Sicherheitsdatenblätter und die notwendigen Vorsichtsmaßnahmen für den Gebrauch von Laborreagenzien. Für diagnostische Zwecke sind die Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Patientenvorgeschichte, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.
- Nur für professionelle Anwendung.

Entsorgung

Beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Reagenzvorbereitung

Substratstart

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig..

Für die Bestimmung mit P-5-P:

1 Teil P-5-P mit 100 Teilen Reagenz 1 mischen, z.B. $100\ \mu\text{L P-5-P} + 10\ \text{mL R1}$

Haltbarkeit nach Mischen:	6 Tage	bei	$2 - 8^\circ\text{C}$
	24 Stunden	bei	$15 - 25^\circ\text{C}$

Probenstart

ohne P-5-P

4 Teile R1 + 1 Teil R2 mischen

(z.B. $20\ \text{mL R1} + 5\ \text{mL R2}$) = Gebrauchsreagenz

Haltbarkeit:	4 Wochen	bei	$2 - 8^\circ\text{C}$
	5 Tage	bei	$15 - 25^\circ\text{C}$

Das Gebrauchsreagenz vor Lichteinstrahlung schützen.

Benötigte Materialien

Übliche Laborausrüstung

Probenmaterial

Serum oder Heparin-Plasma

Haltbarkeit [5]:

3 Tage	bei	$20 - 25^\circ\text{C}$
7 Tage	bei	$4 - 8^\circ\text{C}$
3 Monate	bei	-20°C

Nur einmal einfrieren. Kontaminierte Proben verwerfen.

Testschema

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

Wellenlänge	340 nm, Hg 365 nm, Hg 334 nm
Schichtdicke	1 cm
Temperatur	37°C
Messung	Gegen Luft

Substratstart

Probe/Kalibrator	100 µL
Reagenz 1	1000 µL
Mischen, 5 Min. inkubieren, dann zufügen:	
Reagenz 2	250 µL
Mischen, Extinktion nach 1 Min. ablesen und Stopp-Uhr starten.	
Extinktion danach nach 1,2 und 3 Min. wieder ablesen.	

Probenstart

Probenstart nicht mit P-5-P anwenden.

Probe/Kalibrator	100 µL
Gebrauchsreagenz	1000 µL
Mischen, Extinktion nach 1 Min. ablesen und Stopp-Uhr starten.	
Extinktion danach nach 1,2 und 3 Min. wieder ablesen.	

Berechnung**Mit Faktor**

Aus den abgelesenen Extinktionen wird $\Delta E/\text{min}$ berechnet und mit dem entsprechenden Faktor aus der folgenden Tabelle multipliziert:

 $\Delta E/\text{min} \times \text{Faktor} = \text{ALAT-Aktivität [U/L]}$

Substratstart

340 nm	2143
334 nm	2184
365 nm	3971

Probenstart

340 nm	1745
334 nm	1780
365 nm	3235

Mit Kalibrator

$$\text{ASAT [U/L]} = \frac{\Delta E/\text{min. Probe}}{\Delta E/\text{min. Kalibrator}} \times \text{Konz. Kalibrator [U/L]}$$

Umrechnungsfaktor

$$\text{ALAT [U/L]} \times 0,0167 = \text{ALAT [\mu\text{kat/L}]}$$

Kalibratoren und Kontrollen

DiaSys TruCal U wird zur Kalibrierung empfohlen. Diese Methode wurde gegen die Originalformulierung der IFCC standardisiert. DiaSys TruLab N und P für die interne Qualitätskontrolle messen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall einer Abweichung bei der Kontrollwiederfindung festlegen.

	Bestell-Nr.	Packungsgröße
TruCal U	5 9100 99 10 063	20 x 3 mL
	5 9100 99 10 064	6 x 3 mL
TruLab N	5 9000 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9000 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9050 99 10 061	6 x 5 mL

Leistungsmerkmale**Datenerhebung am BioMajesty® JCA-BM6010/C**

Die unten genannten exemplarischen Daten können bei unterschiedlichen Messbedingungen leicht abweichen.

mit P-5-P

Messbereich an automatisierten Systemen bis 600 U/L. ALAT-Aktivitäten bei manueller Bestimmung bis $\Delta E/\text{min}$ von 0,16 bei 340 nm und 334 nm und 0,08 bei 365 nm. Werden diese Grenzen überschritten, die Proben 1 + 9 mit NaCl-Lösung (9 g/L) verdünnen und das Ergebnis mit 10 multiplizieren.	
Nachweisgrenze**	0,6 U/L

Störende Substanz	Interferenzen ≤ 10 % bis
Ascorbinsäure	30 mg/dL
Bilirubin (konjugiert und unkonjugiert)	54 mg/dL
Hämoglobin	500 mg/dL
Lipämie (Triglyceride)	400 mg/dL
Weitere Informationen zu den Interferenzen finden Sie bei Young DS [6].	

Präzision			
In der Serie (n=20)	Probe 1	Probe 2	Probe 3
Mittelwert [U/L]	33,7	80,3	192
VK [%]	1,37	0,89	0,80
Von Tag zu Tag (n=20)	Probe 1	Probe 2	Probe 3
Mittelwert [U/L]	33,9	80,4	191
VK [%]	1,86	1,29	0,90

Methodenvergleich (n=100)	
Test x	Mitbewerber ALAT (GPT)
Test y	DiaSys ALAT (GPT) FS
Steigung	1,02
Achsenabschnitt	1,74 U/L
Korrelationskoeffizient	0,9999

** niedrigste messbare Aktivität, die von Null unterschieden werden kann; Mittelwert + 3 SD (n = 20) einer analytischen Probe.

ohne P-5-P

Messbereich an automatisierten Systemen bis 600 U/L. ALAT-Aktivitäten bei manueller Bestimmung bis $\Delta E/\text{min}$ von 0,16 bei 340 nm und 334 nm und 0,08 bei 365 nm. Werden diese Grenzen überschritten, die Proben 1 + 9 mit NaCl-Lösung (9 g/L) verdünnen und das Ergebnis mit 10 multiplizieren.	
Nachweisgrenze***	0,6 U/L

Störende Substanz	Interferenzen ≤ 10 % bis
Ascorbinsäure	30 mg/dL
Bilirubin (konjugiert)	60 mg/dL
Bilirubin (unkonjugiert)	55 mg/dL
Hämoglobin	500 mg/dL
Lipämie (Triglyceride)	400 mg/dL
Weitere Informationen zu den Interferenzen finden Sie bei Young DS [6].	

Präzision			
In der Serie (n=20)	Probe 1	Probe 2	Probe 3
Mittelwert [U/L]	34,5	82,4	191
VK [%]	1,54	1,23	0,85
Von Tag zu Tag (n=20)	Probe 1	Probe 2	Probe 3
Mittelwert [U/L]	34,5	81,3	195
VK [%]	1,57	0,85	0,66

Methodenvergleich (n=100)	
Test x	Mitbewerber ALAT (GPT)
Test y	DiaSys ALAT (GPT) FS
Steigung	1,00
Achsenabschnitt	-0,60 U/L
Korrelationskoeffizient	0,9997

*** niedrigste messbare Aktivität, die von Null unterschieden werden kann; Mittelwert + 3 SD (n = 20) einer analytischen Probe.

Referenzbereiche

Mit P-5-P			
Frauen [7]		< 34 U/L	< 0,57 µkat/L
Männer [7]		< 45 U/L	< 0,75 µkat/L
Kinder [1]	1 – 30 Tag(e)	< 25 U/L	< 0,42 µkat/L
	2 – 12 Monate	< 35 U/L	< 0,58 µkat/L
	1 – 3 Jahr(e)	< 30 U/L	< 0,50 µkat/L
	4 – 6 Jahre	< 25 U/L	< 0,42 µkat/L
	7 – 9 Jahre	< 25 U/L	< 0,42 µkat/L
	10 – 18 Jahre	< 30 U/L	< 0,50 µkat/L
Ohne P-5-P			
Frauen [8,9]	< 31 U/L	< 0,52 µkat/L	
Männer [8,9]	< 41 U/L	< 0,68 µkat/L	

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln.

Literatur

1. Thomas L. Alanine aminotransferase (ALT), Aspartate aminotransferase (AST). In: Thomas L, editor. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 55-65.
2. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 617-721.
3. Bergmeyer HU, Horder M, Rej R. Approved Recommendation (1985) on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes. L.Clin. Chem. Clin. Biochem 1986; 24: 481-495.
4. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. ClinChemLabMed 2007;45(9):1240-1243.
5. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; 14-5.
6. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
7. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Féraud G et al. IFCC primary reference procedure for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 4: Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alanine aminotransferase. Clin Chem Lab Med 2002;40:718-24.
8. Lorentz K, Röhle G, Siekmann L. Einführung der neuen Standardmethoden 1994 zur Bestimmung der katalytischen Enzymkonzentrationen bei 37 °C. DG Klinische Chemie Mitteilungen 1995; Heft 4.
9. Zawta B, Klein G, Bablok W. Temperature Conversion in Clinical Enzymology? Klin. Lab. 1994; 40: 33-42.



DiaSys Diagnostic Systems GmbH
 Alte Straße 9 65558 Holzheim Deutschland
 www.diasys-diagnostics.com

* Flüssig Stabil