

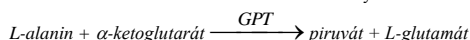
Kódszám:	46361	46362	46363
Kiszerezés:	120 ml (1x80 ml+ 1x40 ml)	600 ml (1x400 ml+1x200 ml)	10x30 ml (10x20 ml+10x10 ml)

A szérumban lévő alanin-amino-transzferáz (ALT/GPT) aktivitásának meghatározására szolgáló reagenskészlet. IFCC ajánlása szerinti kinetikus optimalizált UV teszt.

A sejtek citosol frakciójában előforduló nem szövetspecifikus szolubilis enzim. Az alanin-amino-transzferáz (ALT/GPT) aminosoportok átvitelét katalizálja az aminosavak és α -ketosavak átalakulása során. A vérben lévő enzim elsősorban máj és vese eredetű. A szérum enzimaktivitása hepatitisz és egyéb májbetegségek esetében jelentősen emelkedhet.

A mérés elve

Optimális pH-n az alanin-amino-transzferáz (ALT/GPT) katalizálja a reakcióelegyben lévő két szubsztrát, az L-alanin és 2-oxoglutarát átalakulását. A reakcióban keletkező piruvátot a laktát-dehidrogenáz (LDH) segédenzim NADH koenzim jelenlétében L-laktáttá alakítja, miközben a NADH-NAD⁺ oxidációs-redukciós folyamatot 340 nm-en abszorbancia csökkenés kíséri. Az abszorbanciaváltozás arányos a szérum ALT/GPT aktivitásával.



Referencia-értéktartomány

Férfiak: 5-45 U/l (0,085-0,765 μ kat/l)

Nők: 5-40 U/l (0,085-0,67 μ kat/l)

Minden laboratóriumnak ajánlott a saját normálérték-tartományát meghatározni.

Reagens

1.Reagens (R1)

Tris puffer, pH=7.50	110 mmol/l
L-alanin	600 mmol/l
LDH	1500 U/l
NADH	240 μ mol/l

2.Reagens (R2)

α -ketoglutarát	16 mmol/l
------------------------	-----------

Figyelmeztetés

Zavaros reagens felhasználása tilos. A szennyezések elkerülésére csak tiszta laboratóriumi eszközöket szabad használni. A reagensnek nátrium-azidot tartalmaznak (0.1%). Az azid-vegyületek keletkezésének elkerülése érdekében, a reagens kiöntése után a lefolyót vízzel öblítsük ki.

Minta

Hemolizmentes szérum. Hemolízis, lipémia zavarja a meghatározást. Stabilitás: 1 hét (2-8°C)

A reagens stabilitása

A reagens fénnytől védve és 2-8 °C-on tárolva felbontás nélkül: a címkén jelzett időpontig
felbontás után: 30 nap
kalibrációs gyakoriság: 3 nap
onboard stabilitás: 3-14 nap
A stabilitások kizárólag új rendszerflakon használata esetén érvényesek!

A VIZSGÁLAT KIVITELEZÉSE

Munkareagens készítése és stabilitása

• Egykomponensű reagens készítése:
Keverjük össze két térfogatnyi R1 reagent egy térfogatnyi R2 reagenssel.
stabilitása: 20-25°C-on: 5 nap
2-8°C-on: 2 hét

• Eljárás két reagens alkalmazásával:

A reagens felhasználásra készek.
Amennyiben a munkareagens abszorbanciája 334 nm-en nem éri el az 1,1-et a reagens nem használható.

Mérési eljárás

Hullámhossz:	340 (334-365) nm
Hőmérséklet:	37°C
Fényút:	1 cm
Mérés:	kinetikus (csökkenő)
Leolvasás:	desztillált vízzel szemben

•Bemérés egy reagens esetén:

Munkareagens	1 ml
Minta v. kontroll	100 μ l

Keverjük össze és 2 perces inkubálás után mérjük meg az abszorbanciákat percenként (ΔA /perc), 2 perces keresztül.

•Bemérés két reagens esetén:

R1	1 ml
Minta v. kontroll	150 μ l

Keverjük össze, inkubáljuk egy percig és adjuk hozzá:

R2	500 μ l
----	-------------

Keverjük össze és 2 perces inkubálás után mérjük meg az abszorbanciákat percenként (ΔA /perc), 2 perces keresztül.

Kalibráció (piridoxál-foszfát nélküli módszer, 37 °C-on)
S1: Desztillált víz

S2: Diagnosticum DunaCal Katalógusszám: Dcal
Roche C.F.A.S. (Calibrator for automated system) vagy
Randox Calibration Serum Level I vagy
Randox Calibration Serum Level II

Ajánlott új kalibrációt végezni:

- új gyártási számú készlet felbontásakor,
- ahogy ezt a laboratórium belső minőségügyi rendszere előírja.

Az eredmény kiszámítása

$$\frac{\Delta A_{minta}}{\Delta A_{standard}} \times C_{standard} = C_{minta}$$

A=abszorbancia, C=koncentráció

Az eredmények kiszámítása faktoral

340 nm: aktivitás (U/l) = ΔA /perc x 2200

334 nm: aktivitás (U/l) = ΔA /perc x 1950

Belső minőségellenőrzés

A minőségellenőrzés ajánlott minden laboratóriumnak. Két különböző szintű (egy normál és egy emelkedett) kontrollt javasolunk. A kontrollok mért értékeinek a gyártó által meghatározott tartományba kell esniük. Ha a tartományon kívül esnek az értékek, ajánlott korrigálni a méréseket. Ajánlott kontrollok: Diagnosticum DunaCont N (Katalógusszám: Dcon-N) és DunaCont P (Katalógusszám: Dcon-P)

A REAGENS TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐI

A méréseket Olympus 400-as automatán végeztük (37°C). Átváltás: [U/l]=[μ kat/l] $\times 60$

Linearitás

A módszer 5 – 450 U/l (0,08 – 7,5 μ kat/l) tartományban lineáris

Kimutatási határ

A kimutatási határ 2,0 U/l

Érzékenység

Minden laboratórium számára ajánlott meghatározni saját érzékenységi határt, mivel ezt az alkalmazott spektrofotométer érzékenysége is befolyásolja. A kézi mérés körülményei között 0,001 Abs/min 334 nm-en mért abszorbanciaváltozás megegyezik 1,95 U/l (0,033 μ kat/l) GPT aktivitással.

Precizitás

n=20	Reprodukálhatóság		
Minta	Átlag aktivitás U/l	SD	CV%
1. minta	34,2	0,80	2,35
2. minta	136	0,80	0,59

n=20	Ismételhetőség		
Minta	Átlag aktivitás U/l	SD	CV%
1. minta	14,5	0,16	1,09
2. minta	318	3,03	0,95

Korreláció

Reagensünket összehasonlítottuk más gyártó GPT reagensével.

A korrelációs regresszió adatai a következők:

korrelációs koefficiens: r=0,9997

lineáris regresszió: y (U/l)= 1,001x+0,199

(x= más gyártó reagens, y= saját reagens).

Szelektivitás

Hemoglobin 0,1 g/l-ig (1,6 μ mol/l), bilirubin 0,15 g/l-ig (257 μ mol/l), lipid 3 g/l-ig, glukóz 10 g/l-ig (55,5 mmol/l) aszkorbinsav 0,5 g/l-ig (2,84 mmol/l) nem befolyásolja a mérést.

Megjegyzés

Ne használja a reagent a csomagolása címkéjén feltüntetett lejárati dátum eltelte után. A készítményeket, tesztoldatokat és reagenset csak az itt leírt teszthez szabad felhasználni.

Csak in vitro diagnosztikai használatra alkalmas.

A címkéken a következő szimbólumok lehetnek



In vitro diagnosztikai orvostechikai eszköz



Gyártási szám



Gyártó



Kódszám



CE-jelölés



Tárolási irány



Tárolási hőmérséklet



Biológiai veszély



Lejárati idő (év/hónap)

Irodalom

Expert Panel on enzyme of the IFCC, Clin. Chim. Acta, 1976. 70:F19.

Szabó A.: Klinikai laboratóriumi vizsgálatok és paraméterek (2010) (ISBN 978-963-9879-75-1)

Verzió: 63-DL-2016-09

Felülvizsgálat dátuma: 2016-12

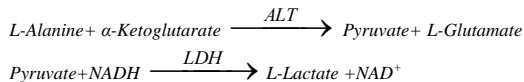
Cat. No.:	46361, 316363	46362, 316364	46363, 316365
Size:	120 ml (1x80 ml+1x40 ml)	600 ml (1x400 ml+1x200 ml)	10x30 ml (10x20 ml+ 10x10 ml)

Reagent kit for the determination of the alanine aminotransferase (ALT) activity in serum based upon IFCC recommendations.

ALT is found in the cytosol of cells, it is a non-tissue specific soluble enzyme. ALT catalyses the transfer of amino groups during the transformations of aminoacids and alpha-ketoacids. Pyridoxal phosphate activates the process. The enzyme found in the serum is principally derived from the liver and kidney. The serum enzyme activity is increased during various hepatic disease states including hepatitis.

Principle

ALT catalyses the transformation of L-Alanin and 2-Oxoglutarate at optimal pH. The Pyruvate released in the reaction is transformed by Lactate dehydrogenase (LDH) in the presence of NADH /NAD⁺ coenzyme to L-lactate, while the NADH/NAD⁺ oxidoreductive process shows a decrease in absorbance at 340 nm. The change in absorbance correlates with serum ALT activity.



Reference values

Male	5-45 U/l (0,085-0,765 µkat/l)
Female	5-40 U/l (0,085-0,67 µkat/l)

It is recommended that each laboratory should assign its own normal range.

Reagents

1.Reagent (R1)

Tris buffer, pH:7.50	110 mmol/l
L-Alanine	600 mmol/l
LDH	1500 U/l
NADH	240 umol/l

2.Reagent (R2)

α-Ketoglutarate	16 mmol/l
-----------------	-----------

Precaution

Discard cloudy reagent. These reagents contain 0.1% sodium azide. Avoid contamination by using clean laboratory materials (pipettes, plastic vials for analyzers, ...). To avoid the possible build-up of azide compounds, flush waste-pipes with water after the disposal of undiluted reagent.

Samples

Serum free of haemolysis. Haemolysis, lipaemia interfere with the test. Stability: 1 week (2-8°C)

Stability

without opening:	till the expiry date indicated on the label
after opening:	30 days
calibration frequency:	3 days
onboard stability:	3-14 days

Stability data are valid only when using new system bottle!

PROCEDURE

Preparation and stability of working reagent

• One-reagent procedure:

Mix 2 volumes of reagent 1 with 1 volume of reagent 2.

Stability:	at 20-25 °C:	5 days
	at 2-8 °C:	2 weeks

• Two-reagent procedure: reagents are ready for use.

If the absorbance of working reagent is lower than 1.1 at 334 nm the reagent can not be used.

Assay conditions

Wavelength :	340 (334-365) nm
Temperature :	37°C
Cuvette :	1 cm light path
Read against:	distilled water
Method:	kinetic (decreasing)

• One-reagent procedure

Working reagent	1 ml
Sample or Control	100 µl

Mix and after a 2-minute incubation, measure the change of absorbance per minute (ΔA/min) during 2 minutes.

• Two-reagent procedure

R1	1 ml
Sample or Control	150 µl

Mix, incubate for one minute 37 °C and add:

R2	500 µl
----	--------

Mix and after a 2-minute incubation, measure the change of absorbance per minute (ΔA/min) during 2 minutes.

Calibration(37°C, IFCC without pyridoxal-phosphate)

S1: Distilled water
S2: Diagnosticum DunaCal Cat. No.: Deal or Roche C.F.A.S. (Calibrator for automated system) or Randox Calibration Serum Level I or

Randox Calibration Serum Level II

Calibration frequency

Two point calibration is recommended
- after reagent lot change,
- as required following quality control procedures.

Calculation using calibration

$$\frac{\Delta A_{sample}}{\Delta A_{standard}} \times C_{standard} = C_{sample}$$

A = Absorbance, C = Concentration

Calculation using factor

340 nm: Activity (U/l) = ΔA/min. x 2200; (µkat/l) = ΔA/min. x 36,67
334 nm: Activity (U/l) = ΔA/min. x 1950; (µkat/l) = ΔA/min. x 32,50

Quality control

A quality control program is recommended for all clinical laboratories. The analysis of control material in both the normal and abnormal ranges with each assay is recommended for monitoring the performance of the procedure. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits. Recommended controls: Diagnosticum DunaCont N (Cat. No.: Dcon-N) and DunaCont P (Cat. No.: Dcon-P)

PERFORMANCE DATA

The following data were obtained using the Olympus 400 analyzer (37°C). Conversion factor: [U/l]=[µkat/l]×60

Linearity

The method is linear in the range 5 – 450 U/l (0,08 – 7,5 µkat/l)

Limit of detection

The limit of detection is 2,0 U/l

Sensitivity

It is recommended that each laboratory establishes its own range of sensitivity as this is limited by the sensitivity of the spectrophotometer used. Under manual conditions however, a change of 0.001 Abs units/min is equivalent to 1.95 U/l (0,033 µkat/l) GPT activity at 334 nm.

Precision

Reproducibility, n=20	Average activity (U/l)	SD	CV%
sample I	34.2	0.80	2.35
sample II	136	0.80	0.59

Repeatability, n=20	Average activity (U/l)	SD	CV%
sample I	14.5	0.158	1.09
sample II	318	3.032	0.95

Correlation

Comparative studies were done to compare our reagent with another commercial GPT reagent.

The results from these studies are detailed below.

Correlation coefficient: r=0.9997
Linear regression: y (U/l)= 1.001x+0.199
(x= other commercial reagent, y= own reagent).

Specificity










Hemoglobin 1.6 µmol/l (10 mg/dl), bilirubin 257 µmol/l (15 mg/dl), lipid 300 mg/dl, glucose 55.5 mmol/l (1000 mg/dl) and ascorbic acid 2.84 mmol/l (50mg/dl) don't interfere with the assay up to the given levels.

Note

Do not use reagents after the expiry date stated on each reagent container label. Do not use products, test solutions and reagents described above for any purpose other than described herein.

For in vitro diagnostic use only.

The following symbols can be used on the labels

	In vitro diagnostic device		Batch code
	Manufacturer		Catalogue number
	CE-marking		This way up
	Temperature limitations		Biological risk
	Use by (year/month)		

Bibliography

Expert Panel on enzyme of the IFCC, Clin. Chem. Acta, 1976. 70:F19.
Szabó A.: Klinikai laboratóriumi vizsgálatok és paraméterek (2010) (ISBN 978-963-9879-75-1)

Version: 63-DL-2016-09
Date of revision: 2016-12