

LALT (GPT) s/bez Pyridoxal-5-fosfátu (P-5-P)

Pyridoxal-5-fosfát

Goodův pufr	pH 9,8	100 mmol/l
Pyridoxal-5-fosfát		13 mmol/l

Katalogové číslo:

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

Pro stanovení s P-5-P nutno ještě objednat:

2 5010 99 10 030 6 x 3 ml

Použití:

Diagnostická reagentie pro kvantitativní in vitro stanovení ALT v lidském séru nebo heparinizované plazmě na automatických fotometrických systémech.

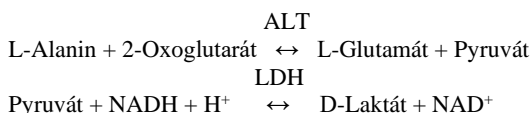
Shrnutí:

Alaninaminotransferáza (ALT), dříve nazývaná Glutamát-pyruváttransamináza (GPT) a aspartátaminotransferáza (AST), dříve nazývaná Glutamát-oxalacetáttransamináza (GOT), jsou nejdůležitějšími zástupci skupiny enzymů – aminotransferáz nebo transamináz, které katalyzují přeměnu α -keto kyselin na aminokyseliny přenosem aminokupin.

Jakožto specifický jaterní enzym je ALT významně zvýšen pouze u hepatobiliárních onemocnění. Zvýšené hladiny AST se však mohou vyskytovat i ve spojení se srdečními poruchami nebo poruchami kosterního svalu, jakož i u jaterního parenchymu. Souběžná měření ALT a AST se proto provádějí za účelem rozlišení, zda jde o poruchy srdce nebo o poškození kosterního svalu. Poměr AST/ALT se používá u diferenciální diagnózy onemocnění jater. Poměry menší než 1 ukazují na mírné poškození jater, zatímco poměry větší než 1 jsou spojovány se závažnějším, mnohdy chronickým onemocněním jater [1,2].

Metoda:

Optimalizované UV stanovení v souladu s International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) [modifikované].



Přídavek pyridoxal-5-fosfátu (P-5-P) dle doporučení IFCC, stabilizuje transaminázy a zabraňuje falešně nízkým hodnotám u vzorků obsahujících nedostatky endogenního P-5-P, např. pacienti s infarktem myokardu, onemocněním jater a pacienti podstupující intenzivní terapii¹.

Reagentie:

Složení a koncentrace

R1:		
TRIS	pH 7,15	140 mmol/l
L-Alanin		700 mmol/l
Laktátdehydrogenáza (LDH)		≥ 2300 U/l
R2:		
2-oxoglutarát		85 mmol/l
NADH		1 mmol/l

Skladování a stabilita:

Reagentie, skladované při 2-8°C, jsou stabilní do konce měsíce deklarovaného data na balení. Chránit před světlem a zabránit kontaminaci. Reagentie se nesmí zamrazit.

Upozornění:

- Činidla obsahují azid sodný (0,95 g/l) jako konzervant. Nepolykejte. Nutno zabránit styku s pokožkou a sliznicemi.
- Reagent 1 obsahuje biologický materiál zvířecího původu. Zacházejte s ním jako s potenciálně infekčním materiálem v souladu s pokyny správné laboratorní praxe.
- Reagent 2 obsahuje biologický materiál zvířecího původu. Zacházejte s ním jako s potenciálně infekčním materiálem v souladu s pokyny správné laboratorní praxe.
- Léčba sulfasalazinem a sulfapyridinem může vést k falešným výsledkům u pacientů. Odběr krve musí být proveden před podáním těchto léků.
- Ve vzácných případech u pacientů s gamapathii se mohou vyskytnout falešné výsledky [4].
- Při práci s touto reagentií dodržujte nutná bezpečnostní opatření. Více informací naleznete v Bezpečnostním listu. Pro diagnostické použití, výsledky by měly být posuzovány v kontextu historie léčby pacienta, klinickými zkouškami a dalšími nálezy.
- Pouze pro použití odborně vyškoleným personálem.

Likvidace odpadů:

Likvidujte v souladu s platnými předpisy.

Příprava reagenčních roztoků:

Činidla jsou připravena k okamžitému použití.

Při stanovení s P-5-P smíchejte 1 díl P-5-P se 100 díly R1.

Např: 100 μ l P-5-P + 10 ml R1

Stabilita směsi: 6 dnů při 2 – 8 °C
24 hod při 15 – 25 °C

Další potřebné materiály:

Obecné laboratorní vybavení.

Vzorek:

Lidské sérum nebo heparinizovaná plazma.

Stabilita [5]: 3 dny při 20 – 25 °C
7 dny při 4 – 8 °C
7 dnů při – 20 °C

Lze zamrazit pouze jednou. Nutno zabránit kontaminaci vzorku.

Pracovní postup:

Základní nastavení pro BioMajesty JCA-BM6010/C.

Vlnová délka:	340/410 nm (bichromatické měření)
Teplota:	37 °C
Měření:	Kinetika
Vzorek/kalibrátor:	6,0 μ l
Reagentie 1:	80 μ l
Reagentie 2:	20 μ l
Přidání reagentie 2:	cyklus 19 (286 s)
Absorbance 1:	-
Absorbance 2:	cyklus 25/42 (367 s/600 s)
Kalibrace:	Lineární

Výpočet:

$$\text{ALAT [U/L]} = \Delta A / \text{min}_{\text{vzorku}} - \Delta A / \text{min}_{\text{kalibrátoru}} \times C_{\text{kalibrátoru}} [\text{U/L}]$$

Konverzní faktor:

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

Kalibrátor a kontroly:

Ke kalibraci je doporučen TruCal U. Hodnota v kalibrátoru TruCal U je standardizována proti originální IFCC formulaci. Pro vnitřní kontrolu kvality by měly být použity kontrolní materiály TruLab N a P. Každá laboratoř by měla mít nastavena korektivní opatření pro případ, že by kontroly vyšly mimo povolené rozsahy.

	Kat. číslo	Balení
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

Charakteristiky metody:

Data byla vyhodnocena na analyzátoru BioMajesty JCA-BM6010/C.

Níže uvedené údaje se mohou mírně lišit v případě odchylných podmínek měření.

S použitím P-5-P

Rozsah měření až 1000 U/L.
Když hodnoty překročí tento rozsah, vzorky by se měly zředit 1 + 9 roztokem NaCl (9 g/l) a výsledek vynásobit 10.

Limit detekce** U/L

Interferující látka	Interference ≤ 10% až do	Koncentrace analytu [U/L]
Ascorbic acid	30 mg/dL	36.0
	60 mg/dL	110
Bilirubin (konjugovaný)	54 mg/dL	36.0
	60 mg/dL	120
Bilirubin (nekonjugovaný)	54 mg/dL	36.0
	60 mg/dL	106
Hemoglobin	500 mg/dL	36.0
	500 mg/dL	118
Lipemia (triglycerides)	400 mg/dL	36.0
	900 mg/dL	99.2

Další informace o interferujících látkách viz Young DS [6,7]

Přesnost

V sérii (n=20)	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3
Průměr [U/L]	26.0	33.7	191
CV [%]	2.67	1.37	0.801
Celková přesnost CLSI (n=80)	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3
Průměr [U/L]	23.5	42.6	505
CV [%]	3.82	1.76	

Srovnání metody (n=154)

Test x	Konkurent ALAT (GPT) (cobas® c 501)
Test y	DiaSys ALAT (GPT) FS (BioMajesty@JCA-BM6010C)
Sklon křivky	1.08
Průsečík	0.771 U/L
Koeficient korelace	0.990

Bez použití P-5-P

Rozsah měření až 1000 U/L.
Když hodnoty překročí tento rozsah, vzorky by se měly zředit 1 + 9 roztokem NaCl (9 g/l) a výsledek vynásobit 10.

Limit of detekce** U/L

Interferující látka	Interference ≤ 10% up to	Koncentrace analytu [U/L]
Ascorbic acid	30 mg/dL	40.0
	60 mg/dL	84.8
Bilirubin (konjugovaný)	60 mg/dL	40.0
	60 mg/dL	97.1
Bilirubin	55 mg/dL	40.0
	60 mg/dL	81.3
Hemoglobin	500 mg/dL	40.0
	1000 mg/dL	98.6
Lipemia (triglyceridy)	400 mg/dL	40.0
	1000 mg/dL	76.3

Další informace o interferujících látkách viz Young DS [6,7]

Přesnost

V sérii (n=20)	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3
Průměr [U/L]	21.4	34.5	191
CV [%]	2.45	1.54	0.853
Celková přesnost CLSI (n=80)	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3
Mean [U/L]	19.9	36.1	393
CV [%]	2.76	1.98	0.917

Srovnání metody (n=154)

Test x	Konkurent ALAT (GPT) (Cobas® c 501)
Test y	DiaSys ALAT (GPT) FS (BioMajesty@JCA-BM6010C)
Slope	1.07
Intercept	1.33 U/L
Koeficient korelace	0.994

** podle dokumentu CLSI EP17-A2, sv. 32, č.8

Referenční rozmezí

S použitím P-5-P			
Ženy [8]		< 34 U/L	< 0.57 μkat/L
Muži [8]		< 45 U/L	< 0.75 μkat/L
Děti [1]	1 – 30 Dní	< 25 U/L	< 0.42 μkat/L
	2 – 12 měsíců	< 35 U/L	< 0.58 μkat/L
	1 – 3 let	< 30 U/L	< 0.50 μkat/L
	4 – 6 let	< 25 U/L	< 0.42 μkat/L
	7 – 9 let	< 25 U/L	< 0.42 μkat/L
	10 – 18 let	< 30 U/L	< 0.50 μkat/L
bez P-5-P			
Ženy [9,10]		< 31 U/L	< 0.52 μkat/L
Muži [9,10]		< 41 U/L	< 0.68 μkat/L

Každá laboratoř by si měla ověřit, jestli jsou tyto referenční hodnoty vhodné i pro jejich populaci pacientů a stanovit svoje vlastní referenční hodnoty pokud je to nutné.

Literatura:

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. 1998; 24: 497-510.
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; p. 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. Young DS. Effects on Clinical Laboratory Tests – Drugs Disease, Herbs & Natural Products, <https://clinfo.wiley.com/aaccweb/aacc/>, accessed on February 2021. Published by AACC Press and John Wiley and Sons, Inc.
8. 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 5: Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alanine aminotransferase. Clin Chem Lab Med 2002;40:718-24.
9. Lorentz K, Röhle G, Siekmann L. Einführung der neuen Standardmethoden 1994 zur Bestimmung der katalytischen Enzymkonzentrationen bei 37°C. DG Klinische Chemie Mitteilungen 26; 1995; Heft 4.
10. Zawta B, Klein G, Bablok W. Temperature Conversion in Clinical Enzymology, Klin. Lab. 1994; 40: 33-42.



Vyrobeno:

DiaSys DiagnosticSystems GmbH
Alte Strasse 9, 65558 Holzheim,
Germany
www.diasys-diagnostics.com

*stabilní v kapalném stavu