

Fluitest® GPT ALT

ALANINE AMINOTRANSFERASE



BioLyzer® Order information:

Catalog No.	BioLyzer	Contents		
B6501	200 / 600	R1	6 x	47 ml
		R2	6 x	11 ml
B6533	300 / 600*	R1	6 x	57 ml
		R2	6 x	14 ml

*only for instruments with a reagent tray for 20 / 70ml bottles

Fluitest GPT ALT without pyridoxal phosphate activation

Intended use:

In vitro test for the quantitative determination of alanine aminotransferase (ALT) in human serum and plasma.

Summary:

Alanine aminotransferase (glutamate-pyruvate-transaminase) belongs to the group of transaminases which catalyze the conversion of amino acids to the corresponding α -ketoacids via the transfer of amino groups; they also catalyze the reverse process. Although higher activities exist in the liver, minor activity can also be detected in the kidneys, heart, skeletal muscle, pancreas, spleen, and lungs. Elevated levels of transaminases are indicative of myocardial infarction, hepatopathies, muscular dystrophy, and damage to internal organs. Increased ALT activity in the serum, however, is a rather specific indicator of damage to the liver parenchyma, while AST is not necessarily a liver-specific parameter.

In 1956, Wroblewski and LaDue described the first kinetic determination of ALT in serum. In 1977 and 1980, the International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) recommended standardized methods for the determination of ALT with optimized substrate concentrations, use of TRIS buffer*, simultaneous preincubation of serum with buffer (to avoid competing reactions with NADH), substrate start, and pyridoxal phosphate activation.

The method described here is derived from the IFCC reference method.

*TRIS = Tris(hydroxymethyl)-aminomethane

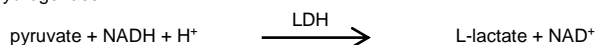
Test principle:

UV test according to the IFCC method

- Sample and addition of R1 (buffer)
- Addition of R2 and start of reaction:



ALT is the enzyme which catalyzes this equilibrium reaction. The pyruvate increase is measured in a subsequent indicator reaction which is catalyzed by lactate dehydrogenase.



In the second reaction, NADH is oxidized to NAD. The rate of decrease in NADH (Measured photometrically) is directly proportional to the rate of formation of pyruvate, and thus the ALT activity.

Reagent concentration:

R1:	
Tris buffer pH 7.8	100 mmol/l
L-Alanine	500 mmol/l
LDH	1200 U/l
R2:	
NADH ₂	0.18 mmol/l
2-Oxoglutarate	15 mmol/l

Preparation and stability:

R1: Ready for use.

R2: Ready for use.

Unopened kit components: Up to the expiration date at +2°C to +8°C

Onboard stability: R1: 60 days

R2: 60 days

Specimen:

Collect serum using standard sampling tubes.

Heparin or EDTA plasma.

Stability: 24 hours at +20°C to +25°C

3 days at +2°C to +8°C

Separate serum/plasma from clot/cells within 8 hours at room temperature or 48 hours at +2°C to +8°C.

Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

Notes:

For in vitro diagnostic use.

The material safety data sheet contains further safety-related information. It is available for download from our homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com>.

Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

Limitations - interference:

Criterion: Recovery within $\pm 10\%$ of initial value.

Hemolysis interferes due to ALT activity from erythrocytes.

Icterus: No significant interference up to an index I of 35 (approximate conjugated and unconjugated bilirubin: 35 mg/dl)

Hemolysis: No significant interference up to an index H of 1200 (approximate haemoglobin concentration: 1200 mg/dl).

Lipemia (Intralipid): No significant interference up to a triglyceride concentration of 950 mg/dl. There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.

Blood samples should only be drawn prior to the administration of Sulfasalazine and Sulfapyridine. Physiological plasma concentrations of sulfasalazine or sulfapyridine can lead to incorrect results.

The effect of drugs or their metabolic products on the test is not known in all cases. In case of doubt it is recommended to repeat the test after the medication has been discontinued. However, the medication may only be discontinued according to instructions of the attending physician.

Testing procedure:

Materials provided

- Working solutions as described above

Additional materials required

- Calibrators and controls as indicated below
- 0.9% NaCl

Measuring range:

3.0-300 U/l or 0.05-5 μ kat/l

Determine samples with higher activities via the rerun function.

Reference values:

Bases of the IFCC-method (37°C) and optimised standard-method of the DGKC (1972):

	U/l	μ kat/l
Men	<50	< 0.85
Women	< 35	< 0.60

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference range. For diagnostic purposes, the ALT results should always be assessed in conjunction with the patient medical history, clinical examination and other findings.

Analytical sensitivity (lower detection limit):

Detection limit: 3.69 U/l or 0.062 μ kat/l

The lower detection limit represents the lowest measurable ALT concentration that can be distinguished from zero.

Imprecision:

Reproducibility was determined using human samples and controls in an internal protocol within day (n = 20). The following results were obtained:

sample	Run to run		
	Mean (U/l)	SD (U/l)	CV %
sample 1	123.59	3.297	2.7
sample 2	20.80	0.852	4.1
sample 3	109.03	1.392	1.3

sample	Within run		
	Mean (U/l)	SD (U/l)	CV %
sample 1	121.06	0.982	0.8
sample 2	19.81	0.886	4.5
sample 3	105.88	0.646	0.6

Method comparison:

A comparison of the Analyticon Fluitest GPT ALT (y) with a commercial obtainable assay (x) gave with 166 samples the following result:

$$y = 0.845x + 1.798; \quad r = 0.995$$

Quality Control:

Human Control Serum		
Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Controptath® Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320

The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits

Fluitest® GPT ALT

ALANINE AMINOTRANSFERASE



Calibration:

Calibration Type: Linear

S1: 0.9% NaCl

S2: Bio Cal® E 10 x 3 ml #1430

Calibration frequency:

Two point calibration is recommended;

- after lot change
- as required following quality control procedures

Calibration verification: Not necessary.

Disposal:

Please note the legal regulations.

Literatur:

1. Bergmeyer HU, Herder M, Rej R. Approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 2. IFCC Method for aspartate aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1986;24:49.
2. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474.
3. Greiling H, Gressner AM (Hrsg.). Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3. Auflage. Stuttgart/New York: Schattauer Verlag, 1995
4. Thefeld W et al. Dtsch med Wschr 1974;99:343.
5. Tietz NW (Hrsg.). Clinical Guide to Laboratory Tests, 3. Auflage. Philadelphia, PA: WB Saunders, 1995:76-77.
6. Wallnöfer H, Schmidt E, Schmidt FW (Hrsg.). Synopsis der Leberkrankheiten. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1974.
7. Thomas L, Klein G. Neue vorläufige Normalbereiche für neun Serumenzyme. Deutsches Ärzteblatt 2006;103;Heft 7.
8. Schumann G et al. IFCC Primary Reference Procedures for the Measurement of Catalytic Activity Concentrations of Enzymes at 37°C – Part 4. Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Activity Concentrations of Alanine Aminotransferase. Clin Chem Lab Med 2002;40(7):718–724.
9. Thefeld W, Hoffmeister H, Busch, E-W, Koller PU, Vollmar J. Referenzwerte für die Bestimmungen der Transaminasen GOT und GPT sowie der alkalischen Phosphatase im Serum mit optimierten Standardmethoden. Dtsch Med Wschr 1974;99:343-351.
10. Klein G, Lehmann P, Michel E, Regenauer H. Vergleich der IFCC-Methoden für ALAT, ASAT und GGT bei 37°C mit den eingeführten Standardmethoden bei 25°C und 37°C. Lab Med 1994;18:403-404.
11. Wroblewski F, LaDue JS. Ann Intern Med 1956;45:801.
12. Wroblewski F, LaDue JS. Proc Soc Exp Biol Med 1956;91 :569.

Text passages with grey background were changed in the latest revision of this package insert.



BioLyzer® Bestellinformation:

Katalog-Nr.	BioLyzer	Inhalt
B6501	200 / 600	R1 6 x 47 ml
		R2 6 x 11 ml
B6533	300 / 600*	R1 6 x 57 ml
		R2 6 x 14 ml

*nur für Instrumente mit Reagenzteller für 20 / 70ml Flaschen

Fluitest GPT ALT ohne Pyridoxalphosphataktivierung

Anwendungszweck:

In vitro Test zur quantitativen Bestimmung der Alanin-Aminotransferase (ALT) in Humanserum und -plasma.

Zusammenfassung:

Die Alanin-Aminotransferase (Glutamat-Pyruvat-Transaminase) gehört zur Gruppe der Transaminasen, welche durch Transfer von Aminogruppen die Umwandlung von Aminosäuren zu den entsprechenden α -Ketosäuren und umgekehrt katalysieren. Obwohl die höchsten Konzentrationen der Alanin-Aminotransferase in der Leber auftreten, kommen geringere Aktivitäten in den Nieren, im Herz, im Skelettmuskel, in der Pankreas, in der Milz und im Lungengewebe vor. Erhöhte Transaminasenspiegel können Myokardinfarkt, Hepatopathien, Muskeldystrophie und Organschädigungen anzeigen. Aktivitätserhöhungen der ALT im Serum sind jedoch ein weitgehend spezifischer Befund für Leberparenchymerkrankungen, wogegen die AST kein leberspezifisches Enzym ist.

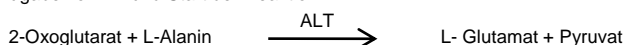
1956 wurde von Wroblewski und LaDue die erste kinetische Bestimmung der ALT im Serum beschrieben. Die International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) empfahl 1977 und 1980 standardisierte Methoden zur Bestimmung der ALT mit optimierter Substratkonzentration, Verwendung von TRIS-Puffer*, gleichzeitiger Vorinkubation von Serum und Puffer, um ablaufende Nebenreaktionen mit NADH zu vermeiden, Substratstart und Pyridoxalphosphataktivierung. Die vorliegende Bestimmung ist eine von der Referenzmethode nach IFCC abgeleitete Methode.

* TRIS = Tris(hydroxymethyl)-aminomethan

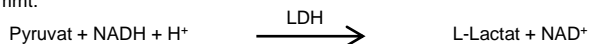
Testprinzip:

UV-Test nach Empfehlungen der IFCC (modifiziert)

- Probe und Zugabe von R1 (Puffer)
- Zugabe von R2 und Start der Reaktion:



Das Enzym ALT katalysiert diese Gleichgewichtsreaktion. Die Pyruvatzunahme wird in der gekoppelten, durch Lactat-Dehydrogenase katalysierten Indikatorreaktion bestimmt.



Dabei wird NADH zu NAD oxidiert. Die Geschwindigkeit der photo-metrisch gemessenen NADH-Abnahme ist direkt proportional der Bildungsgeschwindigkeit von Pyruvat und somit der ALT Aktivität.

Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

R1:	
Tris Puffer pH 7.8	100 mmol/l
L-Alanin	500 mmol/l
LDH	1200 U/l
R2:	
NADH ₂	0.18 mmol/l
2-Oxoglutarat	15 mmol/l

Herstellung und Haltbarkeit:

Ungeöffnete Packungsbestandteile sind bei +2°C bis +8°C bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar.

R1: Inhalt ist gebrauchsfertig
R2: Inhalt ist gebrauchsfertig
Onboard Stabilität: R1: 60 Tage
R2: 60 Tage

Untersuchungsgut:

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen. Heparin- oder EDTA-Plasma.

Haltbarkeit: 24 Stunden bei +20°C bis +25°C
3 Tage bei +2°C bis +8°C

Serum bzw. Plasma ist innerhalb von 8 Stunden bei Raumtemperatur oder 48 Stunden bei +2°C bis +8°C vom Blutkuchen bzw. den Zellen abzutrennen.

Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.

Hinweis:

In vitro Diagnostikum.

Weitere sicherheitsrelevante Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten. Dieses steht auf unserer Homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com> zum Download bereit.

Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen:

Als Bewertung gilt: Wiederfindung \pm 10% vom Ausgangswert.

Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index I von 35 (ca. 35 mg/dl konjugiertes und unkonjugiertes Bilirubin).

Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index H von 1200 (ca. 1200 mg/dl Hämoglobin). Kontaminierung durch Erythrozyten kann zu erhöhten Werten führen.

Lipämie (Intralipid): Keine wesentliche Beeinflussung bis 950 mg/dl Triglyceride. Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.

Blutproben sollten nur vor der Verabreichung von Sulfasalazin und Sulfapyridin entnommen werden. Physiologische Plasmakonzentrationen von Sulfasalazin oder Sulfapyridin können zu falschen Ergebnissen führen.

Die Auswirkung von Medikamenten oder deren Metaboliten auf den Test ist nicht in allen Fällen bekannt. Im Zweifelsfall wird deshalb empfohlen, den Test nach Absetzen der Medikation zu wiederholen. Ein Absetzen der Medikation darf allerdings nur nach Anweisung des behandelnden Arztes erfolgen.

Testverfahren:

Gelieferte Materialien

- Gebrauchsfertige Lösungen wie vorher angegeben.

Zusätzlich benötigte Materialien

- Kalibrations- und Kontrollmaterial wie nachfolgend beschrieben.
- Natriumchlorid-Lösung (0,9%)

Messbereich:

3,0-300 U/l bzw. 0,05-5 μ kat/l

Proben mit höheren Aktivitäten werden über eine Rerun-Funktion bestimmt.

Referenzbereich:

Auf Basis der IFCC-Methode (37°C) und der optimierten Standard-Methode der DGKC (1972):

	U/l	μ kat/l
Männer	<50	< 0.85
Frauen	< 35	< 0.60

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln. Für diagnostische Zwecke sind die ALT Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

3,69 U/l bzw. 0,062 μ kat/l

Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren ALT Aktivität, die von Null unterschieden werden kann.

Impräzision:

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben von Tag zu Tag (n = 20) bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

Probe	Tag / Tag		
	MW (U/l)	SD (U/l)	VK %
Probe 1	123,59	3,297	2,7
Probe 2	20,80	0,852	4,1
Probe 3	109,03	1,392	1,3

Probe	In der Serie		
	MW (U/l)	SD (U/l)	VK %
Probe 1	121,06	0,982	0,8
Probe 2	19,81	0,886	4,5
Probe 3	105,88	0,646	0,6

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon Fluitest GPT ALT (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden mit 166 Proben folgende Ergebnisse erhalten:

$y = 0,845x + 1,798$; $r = 0,995$

Qualitätskontrolle:

Humanes Kontrollserum

Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
ControPath® Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320

Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors und den länderspezifischen Richtlinien anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der festgesetzten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall beschreiben, dass Werte außerhalb des Bereichs liegen.

Kalibration:

Fluitest® GPT ALT

ALANIN AMINOTRANSFERASE



Kalibrations Typ: Linear

S1: 0,9% NaCl

S2: Bio Cal® E

10 x 3 ml

#1430

Kalibrationshäufigkeit:

Eine Zweipunktkalibration wird empfohlen bei

- Reagenzchargenwechsel
 - wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern
- Verifizierung der Kalibration: Nicht erforderlich.

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften

Literatur:

1. Bergmeyer HU, Herder M, Rej R. Approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 2. IFCC Method for aspartate aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1986;24:49.
2. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474.
3. Greiling H, Gressner AM (Hrsg.). Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3. Auflage. Stuttgart/New York: Schattauer Verlag, 1995
4. Thefeld W et al. Dtsch med Wschr 1974;99:343.
5. Tietz NW (Hrsg.). Clinical Guide to Laboratory Tests, 3. Auflage. Philadelphia, PA: WB Saunders, 1995:76-77.
6. Wallnöfer H, Schmidt E, Schmidt FW (Hrsg.). Synopsis der Leberkrankheiten. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1974.
7. Thomas L, Klein G. Neue vorläufige Normalbereiche für neun Serumenzyme. Deutsches Ärzteblatt 2006;103;Heft 7.
8. Schumann G et al. IFCC Primary Reference Procedures for the Measurement of Catalytic Activity Concentrations of Enzymes at 37°C – Part 4. Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Activity Concentrations of Alanine Aminotransferase. Clin Chem Lab Med 2002;40(7):718–724.
9. Thefeld W, Hoffmeister H, Busch, E-W, Koller PU, Vollmar J. Referenzwerte für die Bestimmungen der Transaminasen GOT und GPT sowie der alkalischen Phosphatase im Serum mit optimierten Standardmethoden. Dtsch Med Wschr 1974;99:343-351.
10. Klein G, Lehmann P, Michel E, Regenauer H. Vergleich der IFCC-Methoden für ALAT, ASAT und GGT bei 37°C mit den eingeführten Standardmethoden bei 25°C und 37°C. Lab Med 1994;18:403-404.
11. Wroblewski F LaDue JS. Ann Intern Med 1956;45:801.
12. Wroblewski F, LaDue JS. Proc Soc Exp Biol Med 1956;91 :569.

Grau hinterlegte Textpassagen wurden in der letzten Überarbeitung dieser Gebrauchsanweisung geändert.

