

GPT ALT

ALANINE AMINOTRANSFERASE



Order information:

Catalog No.	Contents		
11803	R1 1 x	65 ml	R2 20 x for 3 ml
118	R1 1 x	110 ml	R2 10 x for 10 ml
1184	R1 4 x	100 ml	R2 4 x for 100 ml

Intended use:

In vitro test for the quantitative determination of alanine amino-transferase (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 -keto acids via the transfer of amino groups; they also catalyze the reverse process. Although higher activity exists 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.

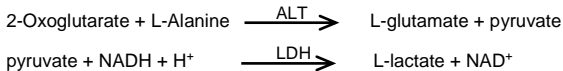
In 1956, Wroblewski and LaDue described the first kinetic determination of ALT in serum. In 1977 and 1980, the International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) recommended standardized methods for the determination of ALT with optimized substrate concentrations, use of TRIS buffer*, simultaneous 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:

Method recommended by the IFCC:



Reagent concentration:

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

Preparation and stability:

Dissolve enzyme reagent /R2 with the corresponding volume of buffer /R1. Before first use wait at least 15 min.

Reconstituted reagent:	2 weeks	at +2 to +8°C
Unopened vials:	up to the expiration date	at +2 to +8°C

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 2-8°C.

Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

Notes:

For in vitro diagnostic use.

 Warning! R2 contains hazardous material. 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.

Icterus: No significant interference up to an index I of 37

(approximate conjugated and unconjugated bilirubin: 37 mg/dl)

Hemolysis: No significant interference up to an index H of 1100 (approximate haemoglobin concentration: 1100 mg/dl).

Lipemia (Intralipid): No significant interference up to an index L of 250 (approximate triglycerides concentration: 500 mg/dl) There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.

Lipemia may cause absorbance flagging as a result of an absorbance increase.

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

Manual procedure:

Wavelength:	Hg 334 nm, Hg 340 nm or Hg 365 nm
Temperature:	+25 / +30 / +37°C
Cuvette:	1 cm light path
Zero adjustment:	against air or distilled water

	Macro	Semi	Micro
Working reagent	2500 μ l	1000 μ l	500 μ l
Sample	250 μ l	100 μ l	50 μ l

Mix, incubate for 1 min. at assay temperature and start stopwatch simultaneously. Read again after exactly 1, 2 and 3 minutes and calculate the $\Delta A/\text{min}$.

If the $\Delta A/\text{min}$. is between 0.11 and 0.25 at Hg 334 nm/ 340 nm or 0.06 and 0.130 at Hg 365 nm use only the values for the first 2 minutes for the calculation.

Calculation:

	Macro	Semi	Micro
Hg 340 nm $\Delta A/\text{min} \times$	1750	1750	1750
Hg 334 nm $\Delta A/\text{min} \times$	1790	1790	1790
Hg 365 nm $\Delta A/\text{min} \times$	3240	3240	3240

Measuring /reportable range:

$\Delta E/\text{min}$ 0.250 at 340 nm or $\Delta E/\text{min}$ 0.130 at 365 nm

At higher activities dilute the sample with 0.9% NaCl solution (e.g. 1+9). Multiply the result by the appropriate dilution factor (e.g. 10)

Expected values:

Bases of the IFCC-method and optimised standard-method of the DGKC (1972)

		25°C	30°C	37°C
U/l	Men	up to 22	up to 29	up to 50
	Women	up to 17	up to 22	up to 35
$\mu\text{kat/l}$	Men	up to 0.37	up to 0.48	up to 0.85
	Women	up to 0.28	up to 0.37	up to 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's medical history, clinical examination and other findings.

Analytical sensitivity (lower detection limit)

Detection limit: 4 U/l or 0.07 $\mu\text{kat/l}$

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

Imprecision:

Reproducibility was determined using controls. The following results were obtained:

within run			
Sample	Mean U/l	SD U/l	CV %
sample 1	30.6	0.59	1.92
sample 2	79.5	1.28	1.61
sample 3	119	1.08	0.91

Between day			
Sample	Mean U/l	SD U/l	CV %
sample 1	33.1	0.78	2.37
sample 2	93.3	1.25	1.34
sample 3	137	2.20	1.61

GPT ALT

ALANINE AMINOTRANSFERASE



Method comparison:

A comparison of the Analyticon ALT (y) with a commercial obtainable assay (x)

gave with 50 samples the following result:

$$y = 1.063 x + 0.263; \quad r = 0.996$$

Quality control:

Human Control Serum

Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Contropath® 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.

Calibration:

S1: 0.9% NaCl

S2: Bio Cal® E 10 x 3 ml #1430

Disposal:

Please note the legal regulations.

Literature:

1. Bergmeyer HU, Herder M, Rej R. Approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. (FCC Method for alanine aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1986;24:481-489.
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, 3rd 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, 3rd Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1995:20-21.
6. Wallnöfer H, Schmidt E, Schmidt FW (Hrsg.). Synopsis der Leber-krankheiten. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1974.
7. Wroblewski F LaDue JS. Ann Intern Med 1956;45:801.
8. Wroblewski F, LaDue JS. Proc Soc Exp Biol Med 1956;91 :569.
9. Thomas L, Klein G. Neue vorläufige Normalbereiche für neun Serumenzyme. Deutsches Ärzteblatt 2006;103;Heft 7.

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

GPT ALT

ALANIN AMINOTRANSFERASE



Bestellinformation:

Katalog-Nr.	Inhalt
11803	R1 1 x 65 ml R2 20 x für 3 ml
118	R1 1 x 110 ml R2 10 x für 10 ml
1184	R1 4 x 100 ml R2 4 x für 100 ml

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):



Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

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

Herstellung und Haltbarkeit:

Den Inhalt einer Flasche R2 mit der entsprechenden Menge R1 lösen. Nach dem Lösen sollte das Reagenz vor Erstgebrauch 15 Min. stehen.
Haltbarkeit Arbeitsreagenz: 2 Wochen 2-8°C
Haltbarkeit ungeöffnet: bis zum Ende des Haltbarkeitsdatums 2-8°C

Untersuchungsgut:

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen Heparin- oder EDTA-Plasma
Haltbarkeit: 24 Stunden bei +20°C/+25°C
3 Tage bei + 2°C/+ 8°C

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

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

Hinweis:

In vitro Diagnostikum.



Warnung! R2 enthält Gefahrstoffe.

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 37 (ca. 37 mg/dl konjugiertes und unkonjugiertes Bilirubin).

Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index H von 1100 (ca. 1100 mg/dl Hämoglobin). Kontaminierung durch Erythrozyten kann zu erhöhten Werten führen.

Lipämie (Intralipid): Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index L von 250 (ca. 500 mg/dl Triglyceride). Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.

Bei lipämischen Proben mit starker Trübung kann infolge hoher Extinktionen eine Extinktionsüberschreitung ausgedrückt werden.

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%)

Manuelle Testdurchführung:

Wellenlänge:	Hg 334 nm, Hg 340 nm oder Hg 365 nm		
Temperatur:	+25 / +30 / +37°C		
Schichtdicke:	1 cm		
Messung:	Gegen Luft oder Aqua dest.		

	Makro	Halbmikro	Mikro
Arbeitsreagenz	2500 μ l	1000 μ l	500 μ l
Probe	250 μ l	100 μ l	50 μ l

Mischen und 1 Minute inkubieren. Anfangsextinktionen ablesen und Stoppuhr starten. Nach genau 1, 2 und 3 Minuten die Ablesung wiederholen und E/min. bilden.

Wenn $\Delta E/\text{min}$. zwischen 0,11 und 0,25 bei Hg 334 nm/ 340 nm oder 0,06 und 0,130 bei Hg 365 nm, werden nur die Werte der ersten 2 Minuten für die Berechnung verwendet.

Berechnung:

	Makro	Semi	Mikro
Hg 340 nm $\Delta A/\text{min} \times$	1750	1750	1750
Hg 334 nm $\Delta A/\text{min} \times$	1790	1790	1790
Hg 365 nm $\Delta A/\text{min} \times$	3240	3240	3240

Messbereich:

$\Delta E/\text{min}$ 0,250 bei Hg 340 nm oder $\Delta E/\text{min}$ 0,130 bei Hg 365 nm
Bei höheren Aktivitäten ist die Probe 1:10 mit NaCl-Lösung (0,9%) zu verdünnen, die Bestimmung zu wiederholen und das Ergebnis mit 10 zu multiplizieren.

Referenzbereich:

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

		25°C	30°C	37°C
U/l	Männer	bis 22	bis 29	bis 50
	Frauen	bis 17	bis 22	bis 35
μ kat/l	Männer	bis 0,37	bis 0,48	bis 0,85
	Frauen	bis 0,28	bis 0,37	bis 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):

4 U/l bzw. 0,07 μ kat/l

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

Impräzision:

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

Probe	In der Serie		
	MW U/l	SD U/l	% VK
Probe 1	30,6	0,59	1,92
Probe 2	79,5	1,28	1,61
Probe 3	119	1,08	0,91

Probe	Tag / Tag		
	MW U/l	SD U/l	% VK
Probe 1	33,1	0,78	2,37
Probe 2	93,3	1,25	1,34
Probe 3	137	2,20	1,61

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon ALT (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test

(x) wurden mit 50 Proben folgende Ergebnisse erhalten:

$$y = 1,063x + 0,263; \quad r = 0,996$$

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:

S1: 0.9% NaCl

S2: Bio Cal® E 10 x 3 ml #1430

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 alanine 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. Karmen A et al. J Clin Invest 1955;24:126.
5. Schmidt FW. Ref Med Ges, Marburg/Lahn, Dezember 1959.
6. Thefeld W et al. Dtsch med Wschr 1974;99:343.
7. Tietz NW (Hrsg.). Clinical Guide to Laboratory Tests, 3. Auflage. Philadelphia, PA: WB Saunders, 1995:76-77.
8. Wallnöfer H, Schmidt E, Schmidt FW (Hrsg.). Synopsis der Leberkrankheiten. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1974.
9. Thomas L, Klein G. Neue vorläufige Normalbereiche für neun Serumenzyme. Deutsches Ärzteblatt 2006;103;Heft 7.

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