

ALAT

Zestaw odczynnikowy do oznaczania aktywności aminotransferazy alaninowej (ALAT, GPT)

Tylko do diagnostyki in vitro

Nr kat. 5011.1

3 x 50 ml

(R1: 3 x 40 ml; R2: 1 x 30 ml)

Nr kat. 5011.2

3 x 100 ml

(R1: 3 x 80 ml; R2: 1 x 60 ml)



ZASTOSOWANIE

Zestaw służy do oznaczania aktywności aminotransferazy alaninowej w surowicy krwi.

ZASADA METODY

Modyfikowana metoda oparta na zaleceniach Międzynarodowego Towarzystwa Chemii Klinicznej (IFCC), bez aktywacji fosforanem pirydoksalu.

$$\text{L-alanina} + 2\text{-oksoglutaran} \xrightarrow{\text{ALAT}} \text{pirogronian} + \text{L-glutaminian}$$

$$\text{pirogronian} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{LDH}} \text{mleczan} + \text{NAD}^+$$

Aminotransferaza alaninowa katalizuje przeniesienie grupy aminowej z alaniny na 2-oksoglutaran tworząc pirogronian i glutaminian. Pirogronian jest redukowany przez NADH, w wyniku czego powstaje mleczan i NAD. Szybkość zmian absorbancji, mierzona przy długości fali 340 nm, jest proporcjonalna do aktywności aminotransferazy alaninowej.

MATERIAŁ DO BADAŃ

Surowica pobrana zgodnie ze standardowymi procedurami. Nie zaleca się stosowania osocza.

Próbki można przechowywać do 7 dni w temp. 2-8°C.

WARTOŚCI PRAWDŁOWE

Dorośli	25°C	30°C	37°C
mężczyźni	< 22 U/l (< 0,35 µkat/l)	< 29 U/l (< 0,50 µkat/l)	< 41 U/l (< 0,70 µkat/l)
kobiety	< 17 U/l (< 0,30 µkat/l)	< 22 U/l (< 0,35 µkat/l)	< 31 U/l (< 0,50 µkat/l)

Podane wartości należy traktować jako orientacyjne. Zaleca się, aby każde laboratorium określiło własne zakresy wartości prawidłowych.

SKŁAD ODCZYNNIKÓW

R1

Bufor TRIS pH 7,15 125 mmol/l
L-Alanina 625 mmol/l
Dehydrogenaza mleczanowa (LDH) 1,7 kU/l
Azydek sodu < 13,9 mmol/l

R2

Bufor węglanowy pH 10,2 75 mmol/l
2-Oksoglutaran 1,1 mmol/l
NADH < 13,9 mmol/l
Azydek sodu
Niereaktywne detergenty i stabilizatory

PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKA ROBOCZEGO

Zmieszać odczynniki R1 i R2 w stosunku 4 + 1. Odczynnik roboczy jest stabilny przez 2 miesiące w temp. 2-8°C lub 5 dni w temp. 15-25°C.

PRZECHOWYWANIE ODCZYNNIKÓW

Przechowywać w temp. 2-8°C w oryginalnych, zamkniętych opakowaniach. Chronić przed kontaminacją i bezpośrednim działaniem światła. Nie zamrażać.

Po otwarciu odczynniki prawidłowo przechowywane i chronione przed zanieczyszczeniem są stabilne do daty ważności podanej na opakowaniu.

PARAMETRY UŻYTKOWE

Limit detekcji: 3,5 U/l (0,06 µkat/l)

Czułość: 0,6 ΔmA x l / U x min. (34,3 ΔmA x l / µkat x min.)

Liniowość: 300 U/l (5,9 µkat/l). Dla wyższych aktywności próbkę należy rozcieńczyć 0,9 % roztworem NaCl; wynik oznaczenia pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia.

Powtarzalność (w serii oznaczeń):

poziom	I	II
n	18	18
średnia (U/l)	35,92	132,12
średnia (µkat/l)	0,60	2,20
% CV	< 3,00 %	< 2,50 %

Odtwarzalność (między seriami oznaczeń):

poziom	I	II
n	18	18
średnia (U/l)	36,14	135,72
średnia (µkat/l)	0,60	2,26
% CV	< 6,00 %	< 4,00 %

Korelacja:

Badania korelacji wyników z wynikami uzyskanymi za pomocą odczynników referencyjnych nie wykazały znaczących różnic. Dokładne wyniki badań są dostępne na życzenie.

Interferencje:

Bilirubina do 20 mg/dl nie wpływa na wyniki oznaczeń. Nie stosować próbek zhemolizowanych i silnie lipemicznych. Inne substancje i leki mogą interferować.

KONTROLA POPRAWNOŚCI DZIAŁANIA

W celu zapewnienia wiarygodności wykonywanych oznaczeń zaleca się stosowanie surowic kontrolnych z wartościami ALAT zmetrykowanymi dla metody IFCC bez aktywacji fosforanem pirydoksalu. Nie stosować odczynników, jeżeli absorbancja odczynnika roboczego mierzona wobec wody przy długości fali 340 nm jest niższa niż 1,100.

DODATKOWE MATERIAŁY I WYPOSAŻENIE

- Fotometr lub analizator automatyczny z termostatowanym gniazdem pomiarowym umożliwiającym pomiar absorbancji przy długości fali 340 nm.

- Standardowe wyposażenie laboratorium diagnostycznego
- W przypadku oznaczeń z aktywacją fosforanem pirydoksalu – dodatkowo potrzebny fosforan pirydoksalu.

WYKONANIE OZNACZENIA

Do kuwety napipetować:

Odczynnik roboczy: 1000 µl

Doprowadzić do temperatury oznaczenia (25°C, 30°C lub 37°C), następnie dodać:

Próbka: 100 µl

Dokładnie wymieszać; po 1 min. inkubacji w temperaturze oznaczenia odczytać absorbancję wobec powietrza lub wody przy dł. fali 340 nm.

Powtarzać odczyty absorbancji po dokładnie 1, 2 i 3 minutach.

Wyznaczyć średnią zmianę absorbancji na minutę (ΔA/min.).

OBLICZENIA

Obliczenia prowadzone są w oparciu o następujący wzór:

$$\text{aktywność ALAT [U/l]} = \frac{V_t \times 10^5}{\epsilon \times l \times V_s} \times \Delta A/\text{min.}$$

V_t - całkowita objętość mieszaniny reakcyjnej = 1,10 ml

ϵ - molowy współczynnik absorbancji NADH przy długości fali 340

nm = $6,3 \times 10^2 \text{ m}^2/\text{mol}$

l - długość drogi światła = 1 cm

V_s - objętość próbki = 0,10 ml

aktywność ALAT [U/l] = 1746 x $\Delta A/\text{min.}$

aktywność ALAT [$\mu\text{kat/l}$] = 29,1 x $\Delta A/\text{min}$

INFORMACJE DODATKOWE

1. Do oznaczania aktywności ALAT z fosforanem pirydoksalu należy dodatkowo zastosować fosforan pirydoksalu.
2. Odczynniki zawierają azydek sodu. Przy pracy z odczynnikami stosować środki ostrożności typowe dla rutynowych prac laboratoryjnych.
3. Odpady utylizować zgodnie z obowiązującymi przepisami - przez termiczne przekształcanie lub odpowiednimi metodami obróbki fizyczno-chemicznej.
4. Aplikacje do analizatorów automatycznych dostarczamy na życzenie.

REFERENCJE

1. Thefeld W., Hoffmeister H., Busch E. W., Koller P. U., Vollmar J.: Referenzwerte für die Bestimmung der Transaminasen GOT und GPT sowie der alkalischen Phosphatase im Serum mit optimierten Methoden. Dtsch. Med. Wschr. 99, 343 (1974).
2. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of en-zymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase (L-alani-ne: 2-oxoglutarate aminotransferase, EC 2.6.1.2). J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 18, 521-534 (1980).
3. Young D. S.: Effects of drugs on clinical laboratory tests, AACC Press, 4th ed. (1995).
4. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes. Part 4. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alanine aminotransferase (L-alanine: 2-oxoglutarate aminotransferase, EC 2.6.1.2). Clin. Chem. Lab. Med. 40, 718-724 (2002).