

Best. Nr. GPT 442
Inhalt: 40 Tests

Zusätzlich erforderlich:
 Minizentrifuge (Best. Nr. DZ 002)
 37°C-Thermostat (Best. Nr. DZ 003)

Methode

UV-Test, IFCC 37°C^{1,2)}, modifiziert, ohne Pyridoxalphosphat-Aktivierung
 Arbeitsgang mit Probenstart

Probenmaterial

Serum, Heparin- oder EDTA-Plasma
 Aktivitätsabfall im Serum
 bei +2°C bis +8°C: nach 3 Tagen ca. 10 %
 bei +20°C bis +25°C: nach 3 Tagen ca. 17 %
 Hämolyse stört.

Reagenzien

Inhalt / Konzentrationen:

- Startreagenz (Kappen in PE-Flasche)
 NADH > 0,18 mmol/L, α -Ketoglutarat 13,3 mmol/L
- Enzym-Substrat-Lösung
 (vorportioniert in Rundküvetten)
 Lactatdehydrogenase (LDH) aus Schweinemuskel > 0,6 kU/L, L-Alanin 500 mmol/L, Natriumazid < 0,1 %, TRIS-Puffer pH 7,15 (37°C) 100 mmol/L

Sicherheitshinweis

Die Pufferlösung (Rundküvette) enthält Natriumazid (< 0,1 %). Verschlucken, Berührung mit der Haut und Schleimhäuten vermeiden. Ein Sicherheitsdatenblatt wird auf Anforderung zur Verfügung gestellt.³⁾

Lagerung und Haltbarkeit

Die Reagenzien sind bei +2°C bis +8°C bis zu dem auf der Packung angegebenen Verfalldatum haltbar.
 Schraubkappen erst unmittelbar vor der Messung aus dem Behälter entnehmen.

Messbedingungen

Messgerät: Vario Photometer II

Messwellenlänge: 365 nm

Temperatur: 37°C

Zusätzlich erforderlich:
 Minizentrifuge, 37°C-Thermostat

Messbereich

10 - 500 U/L
 Bei höheren Werten Serum/Plasma 1+10 mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnen. Zu 1,0 mL NaCl-Lösung 0,1 mL Serum pipettieren, mischen und Bestimmung mit 50 μ L dieser Verdünnung wiederholen.
 Ergebnis x 11.
 Hochaktive Seren können eine erniedrigte Anfangs-extinktionen zeigen, wenn das NADH bereits zu Beginn der Reaktion größtenteils verbraucht ist. (Anzeige: E1 zu tief).
 In diesem Fall Probe wie oben angegeben verdünnen.

Vorbereitung

Der 37°C-Thermostat muss mindestens 20 Minuten vor der Messung eingeschaltet werden.

Arbeitsanleitung

Es können bis zu sechs Proben gleichzeitig gemessen werden.

- GPT 442 Küvetten 7 Min. bei 37°C temperieren.
- 50 μ L Serum/Plasma mit end-to-end Kapillare in Küvetten GPT 442 einbringen, *noch nicht mischen!*
- Kappe aus der PE-Flasche auf die Küvetten aufschrauben und den Inhalt der Kappen durch mehrmaliges Kippen lösen, kräftig mischen. Gleichzeitig soll sich dabei auch die Probe aus der Kapillare lösen.
- Küvetten in den 37°C-Thermostaten zurückstellen.
- Test <GPT> anwählen, Messung starten.
- Der Bedienerführung im Display folgen.
- Nach beendeter Messung die Ergebnisse in (U/L) mit rechter Pfeiltaste abfragen.

Berechnung

Es wird die Aktivität (U/L) der GPT im Plasma berechnet.

$$\text{GPT (37°C)} = F \times \Delta E$$

F = Kalibrationskonstante
 Die Berechnungsformel ist im Vario Photometer II gespeichert.

$$\text{Umrechnung in } \mu\text{kat/L: U/L} \times 0,0167 = \mu\text{kat/L}$$

$$\text{Umrechnung in U/L (25°C): U/L (37°C)} \times 0,55 = \text{U/L (25°C)}$$

Qualitätssicherung

Für die Qualitätssicherung empfehlen wir die Universal Kontrollseren der Firma Roche, www.roche.de:
 PreciControl ClinChem Multi 1 / Multi 2 (4 x 5 mL)
 Order-No.: 05 947 626 190 / 05 947 774 190
 Ref.: Roche / Hitachi analyzers,
 Method: IFCC without pyridoxal phosphate

Referenzwerte⁴⁾ für Serum / Plasma

	U/L 37°C	μ kat/L 37°C
Männer	bis 45	bis 0,77
Frauen	bis 34	bis 0,57

Zusammenfassung^{1,2)}

Die Glutamat-Pyruvat-Transaminase, GPT (neuere Nomenklatur: Alanin-Aminotransferase, ALT) gehört zu den Transaminasen, einer Gruppe von Enzymen, die besonders reichlich in der Leber, im Herzmuskel und in der Skelettmuskulatur vorkommen und bei Schädigung dieser Organe an das Blut abgegeben werden.

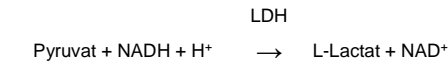
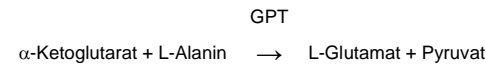
Indikationen / Diagnostische Bedeutung :

- Diagnostik und Verlaufskontrolle von
- Erkrankungen der Leber und Gallenwege
 - Skelettmuskelerkrankungen

Die GPT gilt als sensibler Indikator für Lebererkrankungen. Bei Patienten mit unkompliziertem Myokardinfarkt ist dagegen meist nur ein geringer Anstieg der GPT-Aktivität festzustellen. Zur Bestimmung der GPT wurde in Deutschland bislang die optimierte Standardmethode der Deutschen Gesellschaft für klinische Chemie (DGKC) eingesetzt. Diese Methode ist inzwischen durch die IFCC-Methode 37°C ersetzt worden.

Messprinzip^{2,4)}

α -Ketoglutarat wird mit L-Alanin unter Katalyse mit GPT zu L-Glutamat und Pyruvat umgesetzt. In der nachfolgenden, durch LDH katalysierten Reduktion von Pyruvat zur L-Lactat wird NADH zu NAD⁺ oxidiert.



Der Verbrauch von NADH wird bei 365 nm gemessen. Die Extinktionsabnahme ist der GPT-Aktivität im Serum / Plasma proportional.

Leistungsmerkmale

Spezifität / Interferenzen

Hämolyse stört, da GPT aus den Erythrocyten in Freiheit gesetzt wird. Keine wesentliche Beeinflussung durch Bilirubin und Lipämie. Bei sehr starker Lipämie kann eine zu hohe Anfangsextinktion resultieren. In diesem Falle Probe 1 + 1 oder 1 + 4 verdünnen.
 Die Bestimmung wird ohne Zusatz von Pyridoxal-phosphat durchgeführt, dadurch können die GPT-Werte von Proben, die einen Vitamin B6-Mangel aufweisen, zu niedrig ausfallen.

Unpräzision

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Human- und Kontrollproben überprüft.

In der Serie [n = 18]	Mittelwert [U/L]	Standard-Abweichung [U/L]	VK [%]
Probe 1 Probe 2	42,4 121	1,9 3,4	4,6 2,8
Von Tag zu Tag [n = 18]	Mittelwert [U/L]	Standard-Abweichung [U/L]	VK [%]
Probe 1 Probe 2	43,0 118	2,3 4,6	5,3 3,9

Analytische Sensitivität

Untere Nachweisgrenze: 10 U/L (0,16 μ kat/L)

Methodenvergleich

Ein Vergleich des Diaglobal-Tests GPT 442 (x) mit einem anderen kommerziell erhältlichen Test (y) ergab nach dem Verfahren von Passing/Bablok⁵⁾ die Korrelation:
 $y = 1,006x + 2,532$
 $r = 0,996$

n = 26

Konzentrationsbereich: 15 - 500 U/L

Literatur

- Thomas L. Labor und Diagnose. 4th edition. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft 1995: 120
- International Federation of Clinical Chemistry, Scientific Committee. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1977; 15: 39-51
- <http://www.diaglobal.de/de/service/downloads/index.html>
- Schumann G et al. Clin Chem Lab Med 2002 ; 40 :725-733
- Passing H, Bablok W. A new biometric procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. J Clin Chem Clin Biochem. 1983; 21:709-720

Order No. GPT 442
Content: 40 tests

Additionally required:
 Mini centrifuge (Order. no. DZ 002)
 Dry block heater (Order. no. DZ 003)

Method
 UV test, IFCC 37°C^{1,2}, modified,
 without pyridoxal phosphate activation,
 working process with sample start

Sample material
 Serum, heparin or EDTA plasma
 activity diminution in serum
 at +2°C to +8°C: after 3 days ca. 10 %
 at +20°C to +25°C: after 3 days ca. 17 %
 Haemolysis disturbs.

Reagents
 Content / concentrations:
 1. Starter reagent (caps in PE-bottle)
 NADH > 0.18 mmol/L, α-ketoglutarate 13.3 mmol/L
 2. Enzyme substrate solution
 (pre-portioned in round cuvettes)
 Lactate dehydrogenase (LDH) from pig muscle > 0.6 kU/L,
 L-alanine 500 mmol/L, Sodium azide < 0.1 %, TRIS buffer
 pH 7.15 (37°C) 100 mmol/L

Safety information
 The buffer solution (round cuvette) contains sodium azide (<0.1 %). Do not swallow and avoid contact with skin and mucous membranes. If desired a safety data sheet will be provided.³⁾

Storage and shelf life
 Reagents can be kept at a temperature between +2°C and +8°C until the expiry date indicated on the packaging.

Measurement conditions
 Measurement device: Vario Photometer II
 Meas. wavelength: 365nm
 Temperature: 37°C
 Additionally required: Mini centrifuge, Dry block heater

Measurement range
 10 - 500 U/L
 Should values exceed this range, dilute serum/plasma 1+10 with physiological NaCl solution. Pipette 0.1 mL serum to 1.0 mL NaCl solution, mix and repeat the determination with 50 µL of this dilution. Result x 11.

High activity sera may show a low starting absorption if the NADH has already been consumed for the greatest part at the beginning of the reaction. (Display: ABS 1 too low). In this case, dilute sample as indicated above.

Preparation
 The reagents are ready to use.
 Switch on the dry block heater at least 20 minutes before measurement.

Working instructions
 You may measure up to six samples simultaneously.
 • Incubate GPT 442 cuvettes 7 minutes at 37°C.
 • Pipette 50 µL serum/plasma with end-to-end capillary into cuvettes GPT 442, *not mixing yet!*
 • Screw caps from the PE bottle onto the cuvettes and dissolve the caps' content by inverting several times, mix thoroughly. Hereby the sample has to be streamed out of the capillary completely.
 • Place back cuvettes into the 37°C thermostat.
 • Select test <GPT>, start measurement.
 • Follow user instructions on display.
 • The results (U/L) are shown on display by pressing the right arrow key after the measurements.

Calculation
 The activity (U/L) of GPT in plasma becomes calculated.
 $GPT (37^{\circ}C) = F \times \Delta ABS$
 F = Calibration constant
 The calculation formula is coded in the Vario Photometer II.

Conversion in µkat/L: $U/L \times 0.0167 = \mu kat/L$
 Conversion in U/L (25°C):
 $U/L (37^{\circ}C) \times 0.55 = U/L (25^{\circ}C)$

Quality assurance
 For quality assurance we recommend universal control sera from company Roche, www.roche.de:
 PreciControl ClinChem Multi 1 / Multi 2 (4 x 5 mL)
 Order-No.: 05 947 626 190 / 05 947 774 190
 Ref.: Roche / Hitachi analyzers,
 Method: IFCC without pyridoxal phosphate

Reference values⁴⁾ for serum / plasma

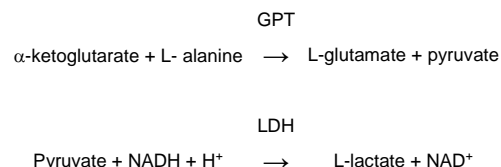
	U/L 37°C	µkat/L 37°C
Men	until 45	until 0.77
Women	until 34	until 0.57

Summary^{1,2)}
 The glutamate pyruvate transaminase, GPT (new nomenclature: alanine aminotransferase, ALT) belongs to the transaminases, a group of enzymes abundantly found in particular in liver, myocardium and skeletal muscle and transferred into blood in case of any damage of these organs.

Indications / diagnostic significance:
 diagnostics and follow-up of
 - liver and biliary tract diseases
 - skeletal muscle diseases

GPT is classified as a sensitive indicator for liver diseases. Patients with an uncomplicated myocardial infarct mostly show a low increase of the GPT activity. In Germany the optimised standard method of the German Society for Clinical Chemistry (DGKC) has been applied so far for GPT determination. By now this method has been replaced by the IFCC method 37°C.

Measuring principle^{2,4)}
 Under catalysis with GPT α-ketoglutarate becomes converted with L-alanine into L-glutamate and pyruvate. The following reduction of pyruvate to L-lactate, catalysed by LDH, causes NADH to oxidise to NAD⁺.



The NADH consumption is measured at 365 nm. The absorption decrease is proportional to the GPT activity in serum / plasma.

Performance parameters
Specificity / interferences
 Haemolysis disturbs as GPT is set free out of erythrocytes. No significant interference because of bilirubin and lipaemia. A very intense lipaemia may cause a too high starting extinction. In this case dilute sample 1 + 1 or 1 + 4. The determination is conducted without additional pyridoxal phosphate. Thus GPT values of samples with vitamin B6 deficiency may result too low.

Inaccuracy
 The reproducibility was checked using human and control samples.

In series [n = 18]	Average [U/L]	Standard deviation [U/L]	VK [%]
Sample 1	42.4	1.9	4.6
Sample 2	121	3.4	2.8
From day to day [n = 18]	Average [U/L]	Standard deviation [U/L]	VK [%]
Sample 1	43.0	2.3	5.3
Sample 2	118	4.6	3.9

Analytic sensitiveness
 Lower detection limit: 10 U/L (0.16 µkat/L)

Comparison of methods
 A comparison of the Diaglobal test GPT 442 (x) and a commercially available test (y) resulted in the following correlation according to the Passing/Bablok⁵⁾ process:
 $y = 1.006x + 2.532$
 $r = 0.996$

n = 26
 Concentration range: 15 - 500 U/L

Bibliography
 1. Thomas L. Labor und Diagnose. 4th edition. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft 1995: 120
 2. International Federation of Clinical Chemistry, Scientific Committee. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1977; 15: 39-51
 3. http://www.diaglobal.de/de/service/downloads/index.html
 4. Schumann G et al. Clin Chem Lab Med 2002; 40: 725-733
 5. Passing H, Bablok W. A new biometric procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. J Clin Chem Clin Biochem. 1983; 21:709-720