

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η δραστικότητα της Αλανίνης Αμινοτρανσφεράσης (GPT) προσδιορίζεται κινητικά σύμφωνα με τις προδιαγραφές της Διεθνούς Εταιρείας Κλινικής Χημείας (IFCC). Η παρουσία του ενζύμου καταλύει την μεταφορά μιας αμινομάδας από το μόριο της L-αλανίνης στο μόριο του α-κετογλουταρικού οξέος. Το παραγόμενο πυροσταφυλικό οξύ παρουσία του ενζύμου γαλακτική αφυδρογονάση (LDH) ανάγεται προς L-γαλακτικό οξύ με ταυτόχρονη οξειδωση του συνενζύμου NADH σε NAD⁺. Η ελάττωση της απορρόφησης στα 340 nm είναι ανάλογη της δραστικότητας της GPT στο δείγμα

**ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ**

Εως 45 U/L (37°C)

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

R1. Ρυθμιστικό διάλυμα
R2. Διάλυμα NADH

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ (παρ.1).

Εξαρτάται από τον τύπο του αναλυτή

α) Χρήση μονού αντιδραστήριου

Αναμίξετε τα δύο αντιδραστήρια σε αναλογία
4 μέρη R₁ με 1 μέρος R₂
(π.χ. 4 ml R₁ + 1 ml R₂).

β) Χρήση διπλού αντιδραστήριου

Τα αντιδραστήρια χρησιμοποιούνται ως έχουν.

ΤΕΛΙΚΕΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ

Ρυθμιστικό διάλυμα Tris 100mM, PH 7.3, NADH 0.18mM,
L-αλανίνη 500mM, LDH>1000 U/L, α-κετογλουταρικό 15 mM.

ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Αναγράφεται στο set, σε θερμοκρασία 2-10°C.
Σταθερότητα διαλύματος εργασίας τουλάχιστον 15 ημέρες σε θερμοκρασία 2-10°C.

ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΜΕΝΟ ΔΕΙΓΜΑ

Ορός μη αιμολυμένος.
Σταθερότητα της GPT στο δείγμα 48 ώρες σε θερμοκρασία 15-30°C ή 3 ημέρες σε θερμοκρασία 2-10°C.

ΜΕΘΟΔΟΣ

Μήκος κύματος : 340 nm
θερμοκρασία : 37°C
κυβελίδα : 1 cm
Μεταφέρατε **1ml** από το διάλυμα εργασίας σε σωληνάριο και επώαστε στους 37°C για 3 min.

- Προσθήκη :

Ορός	:	0.1 ml
-------------	---	---------------

Ανάδευση σε vortex και άμεση αναρρόφηση στο φωτόμετρο.

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ

Με τις παραπάνω συνθήκες ο συντελεστής (factor) έχει τιμή 1746 και η δραστικότητα του ενζύμου υπολογίζεται από την σχέση:

$$\text{GPT (U/L)}_{37^\circ\text{C}} = \Delta A/\text{min} \times 1746$$

ΓΡΑΜΜΙΚΟΤΗΤΑ

Μέχρι 700 U/L (manual 300 U/L) ανάλογα με τον τύπο του αναλυτή.

CALIBRATOR/ ΟΡΟΙ ΕΛΕΓΧΟΥ (Δεν παρέχονται με το kit)

Biomultical, Bionorm, Biopath

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

1. Το NADH είναι εξαιρετικά ευαίσθητο σε οξειδωτικούς παράγοντες, γι αυτό κάθε σκεύος που χρησιμοποιείτε, φροντίζετε να είναι σχολαστικά καθαρό.
2. Ανεξάρτητα εάν η θερμοκρασία της κυβελίδας του φωτομέτρου είναι στους 37°C, ο χρόνος επώασης δεν επαρκεί ώστε να ανέλθει και το διάλυμα στη θερμοκρασία αυτή, ειδικά εάν είναι ψυχρό. Λαμβάνοντας υπόψη ότι 1°C διαφορά θερμοκρασίας προκαλεί σφάλμα περίπου 10%, γιά καλύτερη επαναληπτικότητα είναι αναγκαίο να προεπιβάλλεται το διάλυμα εργασίας.
3. Οι επί μέρους παραμέτροι του προσδιορισμού, χρόνος προεπίωασης, χρόνος επώασης, όρια ελέγχου τυφλού κ.τ.λ. εξαρτώνται από τον τύπο του φωτομέτρου. Για λεπτομερή προγράμματα παρακαλούμε συμβουλευτείτε την εταιρεία μας.
4. Εάν η δραστικότητα του ενζύμου είναι εκτός των ορίων γραμμικότητας της μεθόδου αραιώστε το δείγμα με φυσιολογικό ορό σε αναλογία 1:9 (0.1 ml ορός + 0.9 ml NaCl 0.9 % /v) επαναλάβετε τον προσδιορισμό και πολλαπλασιάστε τα αποτελέσματα επί 10.

ΤΕΧΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

I

Γραμμικότητα (Linearity):

Η αντίδραση είναι γραμμική στην περιοχή συγκεντρώσεων από 2-700 U/L B. Δεδο

Αναλυτική ευαισθησία - όριο ανίχνευσης (Sensitivity):

Το όριο ευαισθησίας του προσδιορισμού υπολογίστηκε ότι αντιστοιχεί με 2 U/L

Πιστότητα (Precision):

Επαναληψιμότητα (Repeatability):

A. Δεδομένα εντός του αυτού κύκλου ανάλυσης:

Αριθμός δειγμάτων	Μέση Τιμή	SD U/L	CV %
24	52,5	1,93	3,67
14	103,5	1,28	1,23
18	122	1,13	0,93

Αναπαραγωγιμότητα (Reproducibility):

B. Δεδομένα διαφόρων κύκλων και ημερών ανάλυσης:

Αριθμός δειγμάτων	Μέση Τιμή	SD UL	CV %
23	30	1,75	5,83
23	104	5,20	5,01
24	122	4,55	3,70

Παρεμποδισεις-αλληλεπιδράσεις interferences):

Δεν παρουσιάζουν σημαντική αναστολή μέχρι τα αναφερόμενα όρια

Παρεμποδιστής	Έκφραση σε	Όρια mg/dl
Αιμόλυση	Αιμοσφαιρίνη	~700
Θολρότητα	Τριγλυκερίδια	~700
Ίκτερος	Χολερυθρίνη	~30

Ανάλυση παλινδρόμησης (Regression Analysis):

Μέθοδος: Γραμμική παλινδρόμηση (Linear Regression)

Αριθμός Δειγμάτων : 39

Όρια συγκέντρωσης : 19-167 U/L

Σχέση : $y = -2,81 + 1,06 x$

Όπου y η παρούσα μέθοδος και x παρεμφερής μέθοδος προσδιορισμού.

Συντελεστής συσχέτισης $r=0,995$

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Bergmeyer H.U. et al Clin.Chem.Acta 70 (1976) F19-42
- Bergmeyer H.U. et al Clin.Chem.Acta 80 (1977) F21-22
- Bergmeyer H.U. et al Clin. Chem. 24 58-73 (1978)

ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ

R1 : 3 x 40 ml R2 : 1 x 30 ml

