



ALT - SGPT

(IFCC Method)

REF: 515001

جمع آوری و آماده سازی نمونه

- نمونه سرم، پلاسما
- از نمونه همولیز شده استفاده نکنید.
- پایداری آنالیت در نمونه:
- دما: ۳ روز در دمای محیط
- دما: ۲-۸ درجه سانتیگراد ۷ روز
- دما: ۷۰- درجه سانتیگراد ۳ ماه

تجهیزات و مواد مورد نیاز برای آزمایش

- معرف R1 و R2
- کالیبراتور شرکت بهان طب آزما جهت کالیبره کردن و کنترل‌های های نرمال و پاتوژن شرکت که می بایست بصورت جداگانه تهیه گردد.
- اسپکتروفوتومتر اتوآنالایزر
- میکرو پیپت

روش انجام آزمایش

پارامترهای دستگاهی

340 nm	طول موج
37°C	دما
1 cm	طول مسیر عبور نور
kinetic	نحوه خوانش

نسبت نمونه/استاندارد/بلانک : تک معرف (R1:R2= 4:1)

نمونه	استاندارد	بلانک	معرف
1000µL	1000µL	1000µL	
-	-	50µL	آب مقطر
50µL	-	-	نمونه
-	50µL	-	استاندارد

مقادیر بالا مخلوط شده و در دمای 37°C به مدت 1 دقیقه انکوبه شود. جذب نمونه (AS) و استاندارد (AC) نسبت به جذب بلانک در فاصله زمانی ۶۰، ۱۲۰، ۱۸۰ ثانیه اندازه گیری شود.

نسبت نمونه/استاندارد/بلانک : معرف (دو معرف)

نمونه	استاندارد	بلانک	معرف
800µL	800µL	800µL	معرف ۱ (R1)
-	-	50µL	آب مقطر
50µL	-	-	نمونه
-	50µL	-	استاندارد
مقادیر بالا مخلوط شده و یک دقیقه در دمای 37°C انکوبه شود. سپس R2 اضافه شود.			
200µL	200µL	200µL	معرف ۲ (R2)

هدف استفاده

این کیت برای اندازه گیری کمی SGPT موجود در سرم استفاده می شود.

اهمیت بالینی

آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) که گلوتامات پیرووات ترانس آمیناز (GPT) نیز نامیده می شود، از گروه ترانس آمینازها می باشد. ALT انتقال گروه آمین از L-آلانین به کتوگلوئارات و تبدیل آن به L-گلوتامات را کاتالیز می کند. بالاترین میزان آنزیم در کبد و کلیه ها و میزان کمتری از آن در قلب و ماهیچه های اسکلتی یافت می شود. غلظت ALT هنگام آسیب به سلول کبدی (نکروز یا هرگونه صدمه دیگری به سلول کبدی) افزایش می یابد. میزان فعالیت ALT در همپاتیت سمی و همپاتیت ویروسی به میزان قابل توجه افزایش می یابد. ولی مصرف الکل و داروهای مختلف میزان ALT را در حد کم تا متوسطی بالا می برد. همچنین غلظت ALT در وضعیت های مختلفی مانند دیستروپی عضلانی، بیماری های همولیتیک، انفارکتوس میوکارد به میزان کمی افزایش نشان می دهد.

اساس اندازه گیری

این آزمایش با روش فتومتری و با استفاده از متد IFCC انجام می شود.

معرف ها

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

*معرف ها مایع و آماده مصرف می باشند.

پایداری و شرایط نگهداری کیت

- در دمای ۲-۸ °C نگهداری شود.
- از قرار دادن کیت در معرض نور و آلودگی به صورت مستقیم جلوگیری شود.
- از فریز کردن معرف ها خودداری شود.

نکات ایمنی

- معرف ها مطابق با الزامات GLP حمل و نگهداری شود.
- معرف ها حاوی سدیم آزید هستند. از بلعیدن، تماس با پوست، چشم و غشاء مخاطی پرهیز کنید. در صورت تماس با پوست حتما با مقدار زیاد آب شسته شود. از پیپت کردن محلول با دهان خودداری شود.
- موارد ایمنی کار با این معرف ها در اسناد ایمنی کیت ها (MSDS) قید شده است.
- دفع پسماند ها مطابق با قوانین تدوین شده وزارت بهداشت انجام شود.



- اینتر اسی-دقت
دو نمونه در دو سطح غلظتی متفاوت در سه روز متوالی هر روز ۲۰ بار اندازه گیری شد.

Inter-Assay Precision(between-run) n=20/day			
CV%	SD	میانگین (U/l)	نمونه
2.7	0.81	30.1	Level 1
0.6	0.70	122.4	Level 2

۴- صحت (مقایسه روش ها)
مقایسه ای بین کیت شرکت بهان با یکی از کیت‌های معتبر بازار بر روی ۶۰ نمونه نتایج زیر بدست آمد.
ضریب همبستگی (R): 0.999
 $y = 0.94 x + 3.76 \text{ U/l}$

۵- بررسی تداخلات احتمالی
آنالیت های زیر درمقادیر ذکر شده، تداخلی در آزمایش نشان نمی دهند.

Bilirubin	≤ 30mg/dl
Triglycerides	≤ 1500mg/dl
Hemoglobin	≤ 1000mg/dl

کنترل کیفیت
هر بار که کیت استفاده می شود باید با نمونه های کنترل تست شود. هر آزمایشگاه باید مقادیر میانگین انحراف استاندارد مورد قبول خود را جهت مقایسه تهیه کند.

منابع

1. F.Lottspeich, J. Engels, Bioanalytics, Analytical Methods and Concepts in Biochemistry and Molecular Biology, Wiley-VCH, 2018
2. Young D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, AACCC Press, Washington, DC 5th ed. 2000
۲. Tietz. N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd Edition.
3. Kaplan LA, Pesce AJ, Clinical Chemistry, 1996

مقادیر بالا مخلوط شده و در دمای 37°C به مدت 1 دقیقه انکوبه شود. جذب نمونه (AS) و استاندارد (AC) نسبت به جذب بلانک در فاصله زمانی ۶۰، ۱۲۰، ۱۸۰ ثانیه اندازه گیری شود.

تمامی پارامترهای ذکر شده برای اندازه گیری دستی این تست است، برای اندازه گیری به صورت اتوماتیک متناسب با ویژگی های هر دستگاه این پارامترها ممکن است تغییر کند.

محاسبات

$$\text{ALT (U/l)} = \frac{\Delta A / \text{min Sample}}{\Delta A / \text{min Calibrator}} * \text{Con. Of calibrator}$$

$$\text{Activity (U/L)} = \Delta A / \text{min} * 3333$$

$$\text{Conversion Factor: U/L} * 0.0167 (\mu\text{kat/L})$$

مقادیر مرجع

Men (U/l)	≤ 45
Women (U/l)	≤ 34

- هر آزمایشگاه باید دامنه مرجع مختص به خود را با توجه به جامعه آماری بیمارانش تعیین کند. برای اهداف تشخیصی نتایج ALT باید تاریخچه پزشکی بیمار، آزمایشات و دیگر یافته ها بطور همزمان بررسی شود.

پارامترهای کارایی کیت

۱- دامنه خطی بودن (Dynamic Range)

10-450 U/L

در نمونه های با غلظت بالاتر، نمونه با محلول 0.9% NaCl با نسبت ۱:۱۰ رقیق شود.

۲- حساسیت (Sensitivity)

- حساسیت (کمترین حد اندازه گیری در محدوده دامنه خطی): 10 U/l

۳- دقت (Precision)

- اینترا اسی - تکرار پذیری

برای اندازه گیری دو نمونه در دو محدوده غلظتی انتخاب و ۲۰ بار اندازه گیری شد.

Intra-Assay Precision (within-run) n=20			
CV%	SD	میانگین (U/l)	نمونه
1.9	0.87	46.5	Level 1
0.9	0.75	124	Level 2