

Réactif ALT (GPT)

Alanine Aminotransférase

CARACTÉRISTIQUES DU PRODUIT

Stabilité	: 50 jours entre 2 et 8 °C
Limites de linéarité	: Jusqu'à 450 U/L
Nature de l'échantillon	: Sérum
Méthode	: Cinétique UV
Préparation du réactif	: Ajouter le volume spécifié d'eau distillée ou déminéralisée.

IVD

UTILISATION PRÉVUE

Ce réactif est prévu pour la quantification in vitro de l'ALT (L-Alanine:2-Oxoglutarate Aminotransférase EC2.6.1.2) dans le sérum humain.

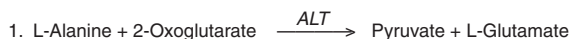
INTÉRÊT CLINIQUE

L'ALT est présent à de fortes concentrations dans le foie et en moindre quantités dans les reins, le cœur et les muscles squelettiques, le pancréas, la rate et les poumons. Des niveaux élevés d'ALT sont cependant généralement le résultat d'une maladie du foie associée à un certain point à une nécrose hépatique telle que la cirrhose, le carcinome, l'hépatite virale ou toxique et la jaunisse obstructive. Typiquement, l'ALT est généralement plus importante que l'AST dans une hépatite virale ou toxique grave, bien que pour la plupart des patients présentant une maladie hépatique chronique, les niveaux d'ALT soient généralement inférieurs aux niveaux d'AST. On a également trouvé des niveaux d'ALT élevés dans les traumatismes étendus et les maladies musculaires, les problèmes circulatoires avec choc, hypoxie, infarctus du myocarde et maladie hémolytique.¹

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Wroblewski et LaDue² ont décrit en premier une méthode de détermination de l'ALT avec LDH et NADH. Cette méthode a ensuite été modifiée par Henry³ et Bergmeyer⁴ pour optimiser les conditions du substrat et éliminer les réactions secondaires. Cette méthode est à présent la base de nombreuses procédures nationales et internationales recommandées. Le réactif à l'ALT est basé sur les recommandations de l'IFCC⁵.

La série des réactions impliquées dans le système de dosage est la suivante:



1. Le groupe amine est transféré enzymatiquement par l'ALT présent dans l'échantillon à partir de l'alanine vers l'atome de carbone du 2-oxoglutarate en produisant de la pyruvate et du L-glutamate.
2. Le pyruvate est réduit en lactate par le LDH présent dans le réactif avec oxydation simultanée du NADH en NAD. La réaction est suivie en mesurant le taux de diminution de l'absorbance à 340 nm due à l'oxydation du NADH.
3. Le pyruvate endogène de l'échantillon est rapidement et totalement réduit par le Lactate déshydrogénase (LDH) pendant la période d'incubation initiale afin qu'il n'interfère pas avec le dosage.

COMPOSITION DU RÉACTIF

Ingrédients actifs

	Concentration
L-Alanine	440 mmol/L
NADH	> 0,18 mmol/L
LDH (microbien)	> 1820 U/L
2-Oxoglutarate	16,5 mmol/L
Tampon Tris	88 mmol/L

Contient également des compléments et stabilisants inertes.
pH 7,5 ± 0,1 at 20°C.

PRECAUTIONS: Ne pas ingérer. Éviter tout contact avec les yeux. En cas de débordements ou de coulures rincer les surfaces affectées à l'eau. Le réactif contient de l'Azide de sodium et est susceptible de réagir avec le plomb et le cuivre résiduels. Afin d'éliminer toutes traces de réactif, rincer avec de grandes quantités d'eau. La fiche de sécurité sur le réactif du l'ALT (GPT) contient des informations plus détaillées. L'emballage de ce produit contient du caoutchouc naturel sec Manipuler avec précaution les sertissages et les fioles en verre cassées, car les bords acérés peuvent blesser l'utilisateur.

SYMBOLES DE L'ÉTIQUETAGE DU PRODUIT

EC REP	Représentant Autorisé		Limites de température
IVD	Utilisation en diagnostique in vitro		Utiliser jusque
LOT	Numéro de lot		ATTENTION: Consulter les instructions d'utilisation
REF	Référence catalogue		Fabriqué par
	Consulter les instructions d'utilisation		Xn - Nocif

R22 Nocif en cas d'ingestion.

S28 Après contact avec la peau, se laver immédiatement et abondamment avec savon et l'eau.

PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Reconstituer le réactif en ajoutant le volume d'eau distillée ou désionisée indiqué sur l'étiquette du flacon.

STABILITÉ ET CONSERVATION

Avant utilisation:

Lorsqu'il est conservé réfrigéré à 2-8°C, le réactif est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon ou du coffret.

Réactif reconstitué:

Stocké entre 2 et 8°C, le réactif est stable pendant au moins 50 jours.

Indications de la détérioration du réactif:

- Turbidité,
- Absorbance <1,1 à 340 nm (1 cm); et/ou
- Impossibilité d'obtenir les valeurs de contrôle dans leur fourchette de tolérance.

PRELEVEMENT ET MANIPULATION DES ECHANTILLONS

Sérum: Utilisation de sérum non-hémolysé.

Plasma: non recommandé.⁵

Conservation: Les échantillons de sérum peuvent être stockés au moins 3 jours à la température ambiante (18-25°C) et au moins 1 semaine à 4°C.⁶

MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Un analyseur de biochimie capable de maintenir une température constante (37°C) et de mesurer une absorbance à 340 nm.
- Consommables nécessaires au fonctionnement de l'analyseur, par ex.: cupules échantillon.
- Eau distillée ou désionisée pour la préparation du réactif et le matériel requis, par ex.: pipettes.
- Serum de contrôle normal et pathologique.

PROCÉDURE DE DOSAGE

Le paramétrage suivant est recommandé. Des applications selon les analyseurs utilisés sont disponibles sur demande auprès de notre Service Applications.

PARAMETRAGE DU SYSTÈME

Température	30/37°C
Longueur d'onde	340 nm
Type de dosage	Taux/Cinétique
Sens de la réaction	Diminution
Échantillon: Rapport de volume	1:10
Volume réactif	30 µL
Volume réactif	300 µL
Délai/Retard	60 secondes
Temps de lecture	60 secondes
Réactif blanc	Basse 1,1 AU
(Chemin lum. 1cm, 340nm)	Haute 2,0 AU
Linéarité	0 - 450 U/L
(voir la section Linéarité)	
Sensibilité	0,57 ΔmA per U/L
(chemin lumineux 1cm, 340nm)	

CALCULS

Les résultats sont calculés directement par l'analyseur selon la formule suivante :

Activité en U/L = ΔAbs/min x Facteur

$$\text{Facteur} = \frac{\text{TV} \times 1000}{6,3 \times \text{SV} \times \text{P}}$$

Où :
 TV = Volume total de la réaction en mL
 SV = Volume de l'échantillon en mL
 6,3 = Coefficient d'absorption millimolaire du NADH à 340 nm
 (Voir note 4).
 P = Longueur de chemin de cuvette en cm.

Exemple:

Δ Abs/min = 0,10
 Facteur = 1746
 ALT = $0,10 \times 1746 = 175$ U/L

REMARQUES

1. Les volumes de réactifs et d'échantillon peuvent être modifiés en respectant leur proportionnalité afin de s'adapter aux caractéristiques de chaque analyseur de biochimie.
2. Si l'absorbance est modifiée de plus de 0,26/min, répéter le dosage avec un échantillon plus petit ou diluer avec une solution saline. Se rappeler de régler le facteur pour un volume d'échantillon inférieur ou multiplier le résultat final par le facteur de dilution.
3. La validité des résultats dépend de la précision de l'étalonnage de l'appareil, de la synchronisation et du contrôle de la température.
4. Le coefficient d'absorption millimolaire du NADH à 334 nm = 6,18 et à 365 nm = 3,40.
5. Conversion d'unité : U/L \times 16,67 \times 10⁻³ = μ kat/L

CALIBRAGE

Non requis . Le taux de réaction est converti en U/L d'activité par un facteur de calcul. Voir la section Calcul du présent insert d'emballage.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Afin d'assurer un contrôle de qualité approprié, utiliser un contrôle normal et un contrôle pathologique au moins une fois toutes les huit heures, mais également dans les contextes suivants :

- Au moins toutes les huit heures
- Lorsqu'un nouveau flacon de réactif est utilisée.
- Après une maintenance préventive ou le remplacement d'un des composants fondamentaux de l'analyseur.

Si les résultats de contrôle ne sortent pas dans leur fourchette de tolérance, procéder alors aux actions suivantes :

- Répéter les mêmes contrôles.
- Si les résultats sont encore , en dehors de leur fourchette de tolérance préparer un sérum de contrôle frais et recommencer le test.
- Si les résultats restent hors des limites sur un matériau de contrôle frais, répéter le test avec un réactif neuf.
- Si malgré ces opérations les résultats de contrôle restent en dehors de leur fourchette de tolérance, contactez notre service Applications.

LIMITES DE LA PROCÉDURE :

1. Des études menées pour déterminer le niveau d'interférence entre l'hémoglobine, la bilirubine, la pyruvate et la lipémie, ont donné les résultats suivants:
Hémoglobine: Aucune interférence de l'hémoglobine jusqu'à 1000 mg/dL.
Bilirubine: Aucune interférence de la bilirubine jusqu'à 1000 μ mol/L (60 mg/dL).
Pyruvate: Aucune interférence de la pyruvate jusqu'à 1,25 mmol/L.
Lipémie : Aucune interférence avec la lipémie, mesurée comme triglycérides, jusqu'à 10,7 mmol/L (950 mg/dL).
2. Ne pas utiliser d'échantillon de sérum hémolysé. Les niveaux d'activité de l'ALT dans les globules rouges sont parfois 7 fois supérieurs à ceux des sérums.⁷
3. Young DS⁹ a publié une liste détaillée des médicaments et substances pouvant interférer avec ce dosage.

VALEURS ATTENDUES⁹

A 37°C Adultes : 10 - 35 U/L
 Nouveaux-nés/bébés*: 7 - 40 U/L

Les valeurs indiquées ne représentent que la plage prévue pour cette méthode et ne sont que des indications. Il est recommandé à chaque laboratoire de vérifier sa plage ou de dériver un intervalle de référence pour la population qu'il sert.¹⁰

* Ces valeurs n'ont pas été validées.

MESURES

Les données suivantes ont été obtenues avec le réactif à l'ALT (GPT) sur un analyseur de biochimie automatisé bien entretenu. Les utilisateurs doivent établir les performances du produit sur leur propre analyseur.

IMPRÉCISION

Pendant l'opération:	Niveau I	Niveau II
Nombre de mesures	20	20
Moyenne (U/L)	24,3	105
SD (U/L)	0,37	0,67
CV (%)	1,52	0,64

D'un jour à l'autre:	Niveau I	Niveau II
Nombre de mesures	20	20
Moyenne (U/L)	24,0	103
SD (U/L)	1,16	3,00
CV (%)	4,83	2,91

COMPARAISON DE MÉTHODES

Des études comparatives ont été menées avec un autre réactif du commerce similaire comme référence. Des échantillons de sérum ont été dosés en parallèle et les résultats comparés par régression du moindre carré. Les statistiques suivantes ont été obtenues.

Nombre d'échantillons en double	60
Plage de mesures des échantillons	4 - 617 U/L
Moyenne des mesures (référence)	88 U/L
Moyenne des résultats de l'ALT(GPT)	84 U/L
Pente	0,991
Coordonnées à l'origine	-3,1 U/L
Coefficient de Corrélation	0,999

LINÉARITÉ

Effectué selon les recommandations, le dosage est linéaire jusqu'à 450 U/L (7,5 μ kat/L).

SENSIBILITÉ

Effectué selon les recommandations, ce dosage a une sensibilité de 0,57 Δ mA/min par U/L.

RÉFÉRENCES

- 1 Zilva JF, Pannall PR. "Plasma Enzymes in Diagnosis" in Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment. Lloyd-Luke London. 1979: Chap 17:338.
- 2 Wroblewski F, LaDue JS. Proc Sec Exp Biol and Med 1956; 34:381.
- 3 Henry RJ, et al. Am Jnl Clin Path 1960; 34:381.
- 4 Bergmeyer HU, et al. Clin Chem 1978; 24:58-73.
- 5 IFCC Expert Panel on enzymes Part 3. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 1986; 24:481-95.
- 6 Murray RL. "Alanine aminotransferase" in Clinical Chemistry. Theory, analysis and correlation. Kaplan LA, Pesce AJ (Eds), CV Mosby St Louis 1984:1090.
- 7 Burtis CA, Ashwood ER, "Tietz textbook of Clinical Chemistry" Second Edition, 1994; 795.
- 8 Young DS, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition. 1990: 3:6-12.
- 9 Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Burtis CA and Ashwood ER (Eds). Second Edition, WB Saunders Company, 1994; 2177.
- 10 Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.

© 2009 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.



Fisher Diagnostics
 a division of Fisher Scientific Company, LLC
 a part of Thermo Fisher Scientific Inc.
 Middletown, VA 22645-1905 USA
 Phone: 800-528-0494
 540-869-3200
 Fax: 540-869-8132



MDCI Ltd.
 Arundel House
 1 Liverpool Gardens
 Worthing, West Sussex BN11 1SL UK



REF

Information Commandes

No de Catalogue	Configuration
1160-200	20 x 10 mL
TR18515	20 x 20 mL
TR18503/1160-500	10 x 50 mL
TR18504	10 x 200 mL