

Reagente ALT (GPT)

Alanina Aminotransferasi

SOMMARIO DEL PRODOTTO

Stabilità	:	50 giorni a 2-8°C
Intervallo lineare	:	Fino a 450 U/L
Tipo di campione	:	Siero
Metodo	:	Cinetica UV
Preparazione reagente	:	Aggiunta del volume di acqua distillata o deionizzata specificato.

IVD

USO PREVISTO

Questo reagente consente la determinazione quantitativa in vitro di ALT (L-Alanina:2-Ossoglutarato Aminotransferasi EC2.6.1.2) nel siero umano.

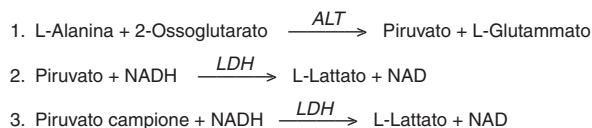
IMPORTANZA CLINICA

L'ALT è presente in concentrazioni elevate nel fegato e in misura minore nei reni, nel cuore, nei muscoli scheletrici, nel pancreas, milza e polmoni. Livelli elevati di ALT, tuttavia, solitamente sono una conseguenza di disturbi del fegato associati a necrosi epatica come ad esempio cirrosi, carcinoma, epatite virale o tossica e itterizia ostruttiva. Solitamente, i livelli di ALT sono superiori a quelli di AST in caso di epatite virale o tossica, mentre nella maggior parte dei casi di disturbi epatici cronici, i livelli di ALT sono generalmente inferiori a quelli di AST. Livelli elevati di ALT sono stati rilevati inoltre in caso di problemi e traumi muscolari, disturbi circolatori associati a shock, ipossia, infarto del miocardio e disturbi emolitici.¹

METODOLOGIA

Wroblewski e LaDue² sono stati i primi a descrivere un metodo per la determinazione dell'ALT utilizzando LDH e NADH. Il metodo in seguito è stato modificato da Henry³ e Bergmeyer⁴ per ottimizzare le condizioni del substrato ed eliminare gli effetti collaterali. Attualmente, tale metodo costituisce la base di numerose procedure consigliate a livello nazionale e internazionale. Il reagente ALT si basa sulle raccomandazioni dell'IFCC⁵.

La serie di reazioni interessata dal sistema di analisi è la seguente:



- Il gruppo amminico viene enzimaticamente trasferito dall'ALT presente nel campione da alanina ad atomo di carbonio di 2- ossoglutarato, che libera piruvato e ed L-glutamato.
- Il piruvato è ridotto a lattato dall'LDH presente nel reagente con la simultanea ossidazione di NADH in NAD. La reazione è monitorata misurando il tasso di riduzione nell'assorbimento a 340 nm, dovuto all'ossidazione di NADH.
- Il campione endogeno di piruvato si riduce completamente e rapidamente per effetto della lactato deidrogenasi (LDH) durante l'iniziale periodo d'incubazione, così che non interferisce con l'esperimento.

COMPOSIZIONE DEL REAGENTE

Ingredienti attivi	Concentrazione
L-Alanina	440 mmol/L
NADH	> 0,18 mmol/L
LDH (microbico)	> 1820 U/L
2-Ossoglutarato	16,5 mmol/L
Tampone Tris	88 mmol/L

Contiene anche stabilizzanti e sostanze aggiunte non reattive.
pH 7,5 ± 0,1 a 20°C.

AVVERTENZA: Non ingerire. Evitare il contatto con gli occhi e con la pelle. In caso di versamento, lavare l'area interessata con abbondante acqua. Il reagente contiene sodio azide che a contatto con impianti idraulici in rame o piombo può causare reazioni. Smaltire con abbondante acqua. Per maggiori informazioni, consultare la documentazione di sicurezza del reagente ALT(GPT). La confezione di questo prodotto contiene gomma naturale solida. Manipolare eventuali fiale di vetro rotte con cautela, in quanto i bordi taglienti possono ferire l'utilizzatore.
R22 Nocivo per ingestione.
S28 In caso di contatto con lapelle lavarsi immediatamente ed abbondantemente con sapone ed acqua.

SIMBOLI DI ETICHETTATURA PRODOTTO

EC REP	Rappresentante autorizzato		Limite di temperatura
IVD	Per uso diagnostico in vitro		Usare entro/Data di scadenza
LOT	Codice/Numero lotto		AVVERTENZA. Consultare le istruzioni d'uso.
REF	Numero catalogo		Prodotto da
	Consultare le istruzioni d'uso		Xn - Nocivo

PREPARAZIONE DEL REAGENTE

Ricostituire il reagente con il volume d'acqua distillata o deionizzata indicato sull'etichetta della bottiglia.

STABILITA' E CONSERVAZIONE

Prima dell'uso:

Se conservato in frigorifero a una temperatura di 2-8°C, il reagente è stabile fino alla data di scadenza indicata sulla bottiglia e sull'etichetta della scatola del kit.

Reagente ricostituito:

Se conservato chiuso a una temperatura di 2-8°C, il reagente è stabile per almeno 50 giorni.

Indicazioni del deterioramento del reagente:

- Torbidità.
- Assorbanza <1,1 a 340 nm (1 cm); e/o
- Mancato recupero dei valori di controllo nell'intervallo assegnato.

RACCOLTA E MANIPOLAZIONE CAMPIONI

Siero: Use non-haemolysed serum.

Plasma: non consigliato.⁵

Conservazione: I campioni di siero possono essere conservati per almeno 3 giorni a temperatura ambiente (18-25°C) e per almeno 1 settimana a 4°C.⁶

TRUMENTAZIONE AGGIUNTIVA NECESSARIA NON FORNITA

- Un analizzatore chimico clinico in grado di mantenere la temperatura costante (37°C) e misurare l'assorbanza a 340 nm.
- Materiali di consumo specifici per l'analizzatore, ad es.: contenitore campioni.
- Acqua distillata o deionizzata per la preparazione del reagente e relativa strumentazione, ad es.: pipette.
- Materiale di controllo analizzato normale e anormale

PROCEDURA DI ANALISI

Si consiglia di attenersi ai seguenti parametri di sistema. Singole applicazioni strumentali sono fornite su richiesta dal Gruppo di assistenza tecnica.

PARAMETRI DI SISTEMA

Temperatura	30/37°C
Lunghezza d'onda	340 nm
Tipo di analisi	Velocità/Cinetica
Direzione	Diminuzione
Campione: Rapporto reagente	1:10
ad es.: Vol. campione	30 µL
Vol. reagente	300 µL
Ritardo	60 secondi
Tempo di lettura	60 secondi
Blank reagente	Bassi 1,1 AU
(1 cm percorso della luce, 340 nm)	Alto 2,0 AU
Linearità	0 - 450 U/L
(fare riferimento alla sezione Linearità)	
Sensibilità	0,57 ΔmA per U/L
(1cm percorso della luce, 340nm)	

CALCOLO

I risultati vengono solitamente calcolati automaticamente dallo strumento come segue:

Attività in U/L = ΔAbs/min x Fattore

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

Dove:

- TV = Volume di reazione totale in mL
SV = Volume campione in mL
6,3 = coefficiente di assorbanza millimolare di NADH a 340 nm (Vedere nota 4).
P = Lunghezza di percorso della cuvetta in cm.

Esempio:

- Abs/min = 0,10
Fattore = 1746
ALT = 0,10 x 1746 = 175 U/L

NOTE

- I volumi di reagente e campione possono essere variati in proporzione per adattarsi ai diversi requisiti dello spettrofotometro
- Se la variazione dell'assorbanza è maggiore di 0,26/min, ripetere l'analisi con quantità inferiore di campione o diluire con soluzione fisiologica. Avere cura di regolare il fattore per il volume campione più piccolo o di moltiplicare il risultato finale per il fattore di diluizione.
- La validità dei risultati dipenderà da una accurata calibratura degli strumenti, la distribuzione dei tempi e il controllo della temperatura.
- Il coefficiente di assorbanza millimolare per NADH a 334 nm = 6,18 e a 365 nm = 3,40.
- Conversione unità: U/L x 16,67 x 10⁻³ = µkat/L

CALIBRAZIONE

Non necessaria. La velocità di reazione è convertita a U/L di attività mediante un fattore di calcolo. Fare riferimento alla sezione di calcolo di questo inserto.

CONTROLLO QUALITA'

Per garantire un controllo qualità adeguato si consiglia di effettuare un controllo normale e anormale con valori analizzati come campioni sconosciuti:

- Almeno ogni otto ore.
- Quando si utilizza una nuova bottiglia di reagente.
- In seguito a manutenzione preventiva o sostituzione di un componente critico.

I risultati del controllo non rientranti nei limiti superiore o inferiore degli intervalli stabiliti indicano che il campione potrebbe essere fuori controllo.

In tali situazioni si consiglia di effettuare le seguenti azioni correttive:-

- Ripetere gli stessi controlli.
- Se i risultati dei controlli ripetuti non rientrano nei limiti, preparare del siero di controllo nuovo e ripetere la prova.
- Se i risultati del materiale appena controllato continuano a non rientrare nei limiti, ripetere il test con reagente appena preparato.
- Se i risultati risultano ancora fuori controllo, contattare l'Assistenza tecnica o il distributore locale.

LIMITAZIONI

- Si riportano di seguito i risultati di studi condotti per determinare il livello di interferenza da emoglobina, bilirubina, piruvato e lipemia:
Emoglobina: Nessuna interferenza da emoglobina fino a 1000 mg/dL.
Bilirubina: Nessuna interferenza da bilirubina fino a 1000 µmol/L (60mg/dL).
Piruvato: Nessuna interferenza da piruvato fino a 1,25 mmol/L.
Lipemia: Nessuna interferenza da lipemia, misurata come trigliceridi fino a 10,7 mmol/L (950 mg/dL).
- Non utilizzare campioni di siero emolizzati. I livelli di attività dell'ALT negli eritrociti sono circa 7 volte superiori di quelli nel siero.⁷
- Young DS⁹ ha pubblicato un elenco completo di farmaci e sostanze che potrebbero interferire con questa analisi.

VALORI PREVISTI⁹

- A 37°C Adulti: 10 - 35 U/L
 Neonati/Infanti*: 7 - 40 U/L

I valori indicati sono rappresentativi dell'intervallo previsto per questo metodo e hanno scopo unicamente di guida. Si consiglia ad ogni laboratorio di verificare questo intervallo o di procurare un intervallo di riferimento per la popolazione a cui si riferisce.¹⁰

* Questi valori non sono stati approvati.

PRESTAZIONI

I dati seguenti sono stati ottenuti utilizzando il reagente ALT su un analizzatore chimico clinico automatico mantenuto in efficienza. Gli utenti dovrebbero stabilire la prestazione del prodotto sui loro analizzatori specifici utilizzati.

IMPRECISIONE

Nell'esecuzione:	LIVELLO I	LIVELLO II
Numero punti di rilevamento	20	20
Media (U/L)	24,3	105
SD (U/L)	0,37	0,67
CV (%)	1,52	0,64

Tra giorni:

	LIVELLO I	LIVELLO II
Numero punti di rilevamento	20	20
Media (U/L)	24,0	103
SD (U/L)	1,16	3,00
CV (%)	4,83	2,91

PRECISIONE

Sono stati condotti degli studi utilizzando come riferimento un reagente simile reperibile sul mercato. I campioni di siero sono stati analizzati in parallelo e i risultati confrontati con regressioni al minimo quadrato. Le statistiche ottenute sono come segue.

Numero di coppie di campioni	60
Intervallo risultati campione	4 - 617 U/L
Media risultati metodo di rif.	88 U/L
Media dei risultati di ALT (GPT)	84 U/L
Pendenza	0,991
Intercetta	-3,1 U/L
Coefficiente di correlazione	0,999

LINEARITA'

Quando condotta secondo le raccomandazioni, l'analisi è lineare fino a 450 U/L (7,5 µkat/L).

SENSIBILITA'

Quando condotta secondo le raccomandazioni, la sensibilità dell'analisi è pari a 0,57 ΔmA/min per U/L.

RIFERIMENTI

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

Dati per nuovi ordini

N°. Catalogo	Configurazione
1160-200	20 x 10 mL
TR18515	20 x 20 mL
TR18503/1160-500	10 x 50 mL
TR18504	10 x 200 mL