

Infinity™

Réactif ALT (GPT) **

CARACTÉRISTIQUES DU PRODUIT

Stabilité	: 12 mois 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 quantité 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 Infinity est basé sur les recommandations de l'IFCC⁵.

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



- 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.
- 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.
- 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 (avant reconstitution)

Ingrédients actifs	Concentration
2-Oxoglutarate	13 mmol/L
L-Alanine	440 mmol/L
NADH	0,26 mmol/L
LDH (microbien)	>3000 U/L
Tampon Tris	97 mmol/L
EDTA	5,0 mmol/L
pH 7,80 ± 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

SYMBOLES UTILISÉS

EC REP	Mandataire dans la CE		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

fiche de sécurité sur l'ALT (GPT) Infinity contient des informations plus détaillées.

R22: Nocif en cas d'ingestion.

S28: Après contact avec la peau, se laver C26immédiatement 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

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 :

Lorsqu'il est conservé à 2-8°C, dans un récipient bouché, le réactif est stable pour une période minimum de 12 mois ou jusqu'à la date de péremption si elle précède la fin de cette période. Il est recommandé de boucher le réactif et de le stocker entre 2 et 8 °C s'il ne doit pas être utilisé pendant longtemps (p. ex. pour la nuit).

Indications de la détérioration du réactif :

- Turbidité,
- Absorbance <1,0 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.

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.
- Sérum 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	37°C
Longueur d'onde principale	340 nm (334, 365nm)
Longueur d'onde annexe	405 nm
Type de dosage	Taux/Cinétique
Sens de la réaction	Diminution
Échantillon: Rapport de volume	1:10 - 1:20
Volume réactif	30 µL
Volume réactif	300 µL
Délai/Retard	30 secondes
Temps de lecture	1 à 3 minutes
Réactif blanc	Basse 1,00 AU
(Chemin lumineux 1cm, 340nm)	Haute 2,50 AU
Linéarité	450 U/L
(voir la section Linéarité)	
Sensibilité	0,573 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 = $\Delta\text{Abs}/\text{min} \times \text{Facteur}$

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

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:

$\Delta\text{Abs}/\text{min}$ = 0,08
Facteur = 1746
ALT = 0,08 x 1746 = 140 U/L

REMARQUES

- 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.
- 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.
- La validité des résultats dépend de la précision de l'étalonnage de l'appareil, de la synchronisation et du contrôle de la température.
- Le coefficient d'absorption millimolaire du NADH à 334 nm = 6,18 et à 365 nm = 3,40.
- Conversion d'unité : U/L x $16,67 \times 10^{-3}$ = $\mu\text{kat}/\text{L}$

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 :

- Le réactif contient du LDH pour réduire rapidement la pyruvate endogène de l'échantillon pendant le délai d'incubation initial. Des niveaux anormalement élevés de pyruvate peuvent donner des résultats faussement élevés. (Le niveau normal de pyruvate du sérum est 0,03 à 0,10 mmol/L.).
- Des études ont été menées pour déterminer le niveau d'interférence de la bilirubine (libre & conjuguée), de l'hémoglobine et de la lipémie, en utilisant des produits de contrôle du commerce.

Les résultats suivants ont été obtenus :

Hémoglobine : Aucune interférence de l'hémoglobine jusqu'à 500 mg/dL.

Bilirubine libre: Aucune interférence de la bilirubine libre jusqu'à 260 $\mu\text{mol}/\text{L}$. (15 mg/dL).

Bilirubine conjuguée: Aucune interférence de la bilirubine conjuguée jusqu'à 116 $\mu\text{mol}/\text{L}$ (6,8mg/dL)

Lipémie: Aucune interférence avec la lipémie, mesurée à une absorbance à 630 nm, jusqu'à 1,68 AU.

- Young DS⁸ a publié une liste détaillée des médicaments et substances pouvant interférer avec ce dosage.

VALEURS ATTENDUES⁷

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.⁹

MESURES

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

IMPRÉCISION

L'imprécision était évaluée avec deux niveaux de contrôle du commerce en respectant la procédure NCCLS EP5-T¹⁰

	Niveau I	Niveau II
Moyenne (U/L)	35	121
CV (%) Pendant l'opération	2,0	0,7
CV (%) Total	2,3	1,0

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	78
Plage de mesures des échantillons	4 - 238 U/L
Moyenne des mesures (référence)	28 U/L
Moyenne des résultats de l'ALT Infinity	26 U/L
Pente	0,95
Coordonnées à l'origine	0,00 U/L
Coefficient de Corrélation	0,999

LINÉARITÉ

Effectué selon les recommandations, le dosage est linéaire jusqu'à 450 U/L avec un rapport SV:RV de 1,20.

La linéarité sur les appareils automatiques dépendra du rapport volume de l'échantillon sur volume de réactif utilisé et du temps des mesures. L'application spécifique à l'appareil doit être consultée.

SENSIBILITÉ

Effectué selon les recommandations, ce dosage a une sensibilité de 0,573 $\Delta\text{mA}/\text{min}$ par U/L.

RÉFÉRENCES

- 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.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Burtis CA and Ashwood ER (Eds). Second Edition, WB Saunders Company, 1994.
- Young DS, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition. 1990: 3:6-12.
- Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. NCCLS, 1984, NCCLS Publication EP5-T.

© 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



Information Commandes

No de Catalogue	Configuration
TR71021	2 x 125 mL