

# Infinity™

## Reagente Stabile Liquido ALT (GPT) \*\*

### SOMMARIO DEL PRODOTTO

Stabilità	:	Fino alla scadenza a 2-8°C
Intervallo lineare	:	Fino a 450 U/L (7,52 µkat/L)
Tipo di campione	:	Siero
Metodo	:	Cinetica UV
Preparazione reagente	:	Fornito pronto per l'uso.

**IVD**

### SIMBOLI DI ETICHETTATURA PRODOTTO

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

#### USO PREVISTO

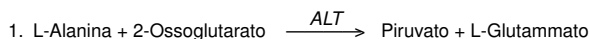
Questo reagente consente la determinazione quantitativa in vitro di ALT (L-Alanina:2-Ossoglutarato Aminotransferasi EC2.6.1.2) nel siero umano.

#### 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.<sup>1</sup>

#### METODOLOGIA

Wroblewski e LaDue<sup>2</sup> 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 Henry<sup>3</sup> e Bergmeyer<sup>4</sup> 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 Infinity si basa sulle raccomandazioni dell'IFCC<sup>5</sup>. 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

	<u>Concentrazione</u>
2-Ossoglutarato	13 mmol/L
L-Alanina	440 mmol/L
NADH	> 0,12 mmol/L
LDH (microbico)	> 2000 U/L
Tampone Tris	97 mmol/L
EDTA	5,0 mmol/L

pH 7,80 ± 0,10 at 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 ulteriori informazioni, consultare la documentazione di sicurezza del Reagente Stabile Liquido ALT (GPT) Infinity.

#### PREPARAZIONE DEL REAGENTE

Il reagente è fornito pronto per l'uso.

#### STABILITA' E CONSERVAZIONE

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. Quando il reagente non viene utilizzato per lunghi periodi (ad esempio durante la notte), si consiglia di conservarlo chiuso a una temperatura di 2-8°C.

#### Indicazioni del deterioramento del reagente:

- Torbidità.
- Assorbanza <1,0 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.

**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.<sup>6</sup>

#### STRUMENTAZIONE AGGIUNTIVA NECESSARIA NON FORNITA

- Se necessario, pipette per il dosaggio accurato dei volumi misurati.
- 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
- 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	37°C
Lunghezza d'onda primaria	340 nm (334, 365nm)
Lunghezza d'onda secondaria	405 nm
Tipo di analisi	Velocità/Cinetica
Direzione	Diminuzione
Campione: Rapporto reagente	1:10
ad es.: Vol. campione	30 µL
Vol. reagente	300 µL
Ritardo	30 secondi
Tempo di lettura	da 1 a 3 minuti
Blank reagente	Bassi 1,00 AU
(1 cm percorso della luce, 340 nm)	Alto 2,50 AU
Linearità	450 U/L (7,52 µkat/L)
(fare riferimento alla sezione Linearità)	
Sensibilità	0,573 ΔmA/min per U/L
(1cm percorso della luce, 340nm)	(34,3 ΔmA/min per µkat/L)

#### 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:**

$\Delta$ Abs/min = 0,08  
 Fattore = 1746  
 ALT = 0,08 x 1746 = 140 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<sup>-3</sup> =  $\mu$ kat/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 QUALITÀ\***

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**

- Sono stati condotti degli studi per determinare il livello di interferenza da bilirubina (libera e coniugata), emoglobina e lipemia utilizzando prodotti per il controllo dell'interferenza disponibili sul mercato.

I risultati ottenuti sono come segue:

**Emoglobina:** Nessuna interferenza da emoglobina fino a un livello di 500 mg/dL.

**Bilirubina libera:** Nessuna interferenza da bilirubina libera fino a un livello di 260  $\mu$ mol/L (15 mg/dL).

**Bilirubina coniugata:** Nessuna interferenza da bilirubina coniugata fino a un livello di 116  $\mu$ mol/L (6,8 mg/dL).

**Lipemia:** Nessuna interferenza da lipemia, misurata come assorbanza a 630nm, fino a 1,68 AU.

- Non utilizzare campioni di siero emolizzati. I livelli di attività dell'ALT negli eritrociti sono circa 7 volte superiori di quelli nel siero.<sup>7</sup>
- Young DS<sup>9</sup> ha pubblicato un elenco completo di farmaci e sostanze che potrebbero interferire con questa analisi.

**VALORI PREVISTI<sup>9</sup>**

A 37°C

Adulti: 10-35 U/L (0,167 - 0,585  $\mu$ kat/L)

Neonati/Infanti\*: 7-40 U/L (0,117 - 0,668  $\mu$ kat/L)

I valori illustrati servono solamente da guida. Si consiglia ad ogni laboratorio di verificare questo intervallo o di procurare un intervallo di riferimento per la popolazione a cui si riferisce.<sup>10</sup>

\* Questi valori non sono stati convalidati con questo reagente.

**PRESTAZIONI**

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

**IMPRECISIONE**

L'imprecisione è stata valutata utilizzando due livelli di controllo commerciale e seguendo la procedura NCCLS EP5-T<sup>11</sup>.

	LIVELLO I	LIVELLO II
Numero di coppie di campioni	40	40
Media (U/L / $\mu$ kat/L)	35 / 0,585	121 / 2,02
Nell'esecuzione	SD (U/L / $\mu$ kat/L) CV (%)	0,7 / 0,012 0,8 / 0,013
Totale	SD (U/L / $\mu$ kat/L) CV (%)	0,8 / 0,013 1,0 / 0,020

**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	78
Intervallo risultati campione	4 - 238 U/L (0,067 - 3,97 $\mu$ kat/L)
Media risultati metodo di rif.	28 U/L (0,468 $\mu$ kat/L)
Media dei risultati di ALT (GPT) Infinity	26 U/L (0,434 $\mu$ kat/L)
Pendenza	0,95
Intercetta	0,00 U/L (0,000 $\mu$ kat/L)
Coefficiente di correlazione	0,999

**LINEARITÀ\***

Quando condotta secondo le raccomandazioni, l'analisi è lineare fino a 450 U/L (7,52  $\mu$ kat/L).

La linearità sugli strumenti automatici dipenderà dal rapporto del volume campione con il volume del reagente utilizzato e la distribuzione nel tempo delle misurazioni. È necessario consultare l'applicazione specifica dello strumento.


**SENSIBILITÀ\***

Quando condotta secondo le raccomandazioni, la sensibilità dell'analisi è pari a 0,573  $\Delta$ mA/min per U/L (34,3  $\Delta$ mA/min per  $\mu$ kat/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.
- Burtis CA, Ashwood ER, "Tietz textbook of Clinical Chemistry" Second Edition, 1994; 2177.
- 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.

© 2008 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

 Fisher Diagnostics  
 a division of Fisher Scientific Company, LLC  
 a subsidiary 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
TR71121	2 x 125 mL
TR71198	2 x 500 mL
1164-200H	4 x 50 mL