

Utilisation

Pour la détermination quantitative de l'Alanine Aminotransférase (ALT) dans le sérum à l'aide des analyseurs Yumizen C230 et Yumizen C240. **Usage médical uniquement.**

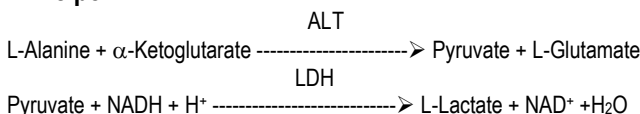
Signification clinique

L'ALT est largement répandue dans les tissus, les concentrations les plus élevées se trouvant dans le foie et les reins. Malgré cela, l'ALT est considérée comme plus spécifique du foie que l'AST. Des taux élevés d'ALT ne sont souvent observés que dans les maladies du foie telles que la cirrhose, l'hépatite ou le carcinome métastatique. Toutefois, des taux élevés d'ALT peuvent être observés en cas de mononucléose infectieuse, de dystrophie musculaire et de dermatomyosite.¹

Historique

Les méthodes UV pour la détermination de l'ALT ont été décrites par Henley² en 1955 et par Wroblewski et La Due³ en 1956. La procédure a été améliorée et optimisée par Henry et al⁴ en 1960. En 1974, la Société scandinave de chimie clinique⁵ a recommandé des conditions de réaction optimisées. La Fédération internationale de chimie clinique (IFCC)⁶ a publié en 1980 une proposition de méthode recommandée utilisant le test couplé LDH-NADH. La procédure décrite ici est basée sur cette méthode.

Principe



L'ALT catalyse le transfert du groupe aminé de la L-alanine à α -céto-glutarate, ce qui entraîne la formation de pyruvate et de L-glutamate. La lactate déshydrogénase catalyse la réduction du pyruvate et l'oxydation simultanée du NADH en NAD. Le taux de diminution de l'absorbance qui en résulte est directement proportionnel à l'activité de l'ALT.

Réactifs

Après avoir combiné R1 et R2, le réactif contient : L-alanine >450mM, α -acide céto-glutarique >14mM, LDH(microbienne) >2000IU/L, NADH >0.18mM, tampon, azide de sodium 0.28%, Stabilisants.

Préparation des réactifs

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

Stockage des réactifs

Conserver les réactifs entre 2 et 8°C. Le réactif est stable jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette s'il est conservé conformément aux instructions.

Dégradation des réactifs

Ne pas utiliser le réactif si

- L'absorbance initiale à 340 nm est inférieure à 0,800.
- Le réactif ne répond pas aux paramètres de performance indiqués.

Précautions

- Ce kit de réactifs est destiné uniquement au diagnostic *in vitro*.
- Le réactif contient de l'azide de sodium (0,28 %) comme conservateur. Ne pas ingérer. Il peut réagir avec des tuyaux en cuivre ou en plomb pour former des azides métalliques explosifs. Lors de l'élimination, rincer avec un grand volume d'eau pour éviter l'accumulation d'azide.

Recueil et stockage des échantillons

- Les échantillons hémolysés ne peuvent pas être utilisés car les globules rouges contiennent de l'ALT.⁷
- L'ALT dans le sérum est stable pendant trois jours à température ambiante (15-30°C), sept jours au réfrigérateur (2-8°C) et trente jours au congélateur (-20°C).⁷

Interférences

- Un certain nombre de médicaments et de substances affectent l'activité de l'ALT. Voir Young, et al.⁸
- La bilirubine à au moins 30 mg/dl et l'hémoglobine à au moins 400 mg/dl ont un effet négligeable sur cette procédure.

Matériel fournis

Réactifs ALT (SGPT) R1 et R2.

Matériel requis mais non fournis

- Analyseur Yumizen C230 / Yumizen C240
- Yumizen C230 / Yumizen C240
- Contrôle de chimie, numéro de catalogue C7592-100.

Paramètres tests

Test:	ALT	Chemistry:	ALT
Chemistry No.:	202	Print Name:	ALT
Reaction Type:	Kinetic	Reaction Direction:	Negative
Pri. Wave:	340 nm	Sec. Wave:	405 nm
Decimal.:	0	Samp. Type:	Serum
Blank Time:		Reaction Time:	3 11
Unit:	U/L	Incubation Time:	3

	Sample Vol.	Aspirated	Diluent	Reagent Vol.	Diluent
Standard;	9	uL	uL	uL R1: 180	uL uL
Decreased;		uL	uL	uL R2: 45	uL uL
Increased;		uL	uL	uL	

Linearity Range (Standard):	0-300	Linearity Limit:	0,3
Linearity Range (Decreased):		Substrate Depletion:	5000
Linearity Range (Increased):		Mixed Blank Abs.:	- 40000 40000
R1 Blank Abs.:	- 40000 40000	On-board Stability:	30 Day (s)
Blank Response	- 40000 40000	Reagent Alarm Limit:	5
Twin Chemistry:			

Prozone Check:		
Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Use Qualitative Result:	
Range:	Flag:

Slope Offset:			
Slope	Offset	Unit	
1	0	U/L	

Pretreatment:	
Pretreat Sample Vol.:	uL Pretreat Reagent Vol.: uL

Ref. Range:	
Sample Type:	Gender: Age Range: Ref. Range: Critical Range: Unit:

Paramètres d'étalonnage

Chem:	ALT	Calibrator	Conc.	Pos	Lot No.
Calibration Setting		Water	0.0	W	
Math Model:	K Factor				
Factor:	4700.000	Replicates:	2		
Acceptance Limits					
Cal Time:	24 hr.				
Slope Diff:	SD:				
Sensitivity:	Repeatability				* User Defined
Deter Coeff:					
Auto Calib.	<input type="checkbox"/> Cal Time				

Pointe ALT (SGPT) Kit de réactifs

Limites

1. Les échantillons troubles ou fortement ictériques peuvent donner des résultats dont l'absorbance initiale dépasse les capacités du spectrophotomètre. Des résultats plus précis peuvent être obtenus en utilisant 0,05ml (50ul) d'échantillon et en multipliant la réponse finale par deux.
2. Les échantillons dont les valeurs sont supérieures à 500 UI/L doivent être dilués à 1:1 avec une solution saline, dosés à nouveau et les résultats multipliés par deux.

Calibration

La procédure est normalisée au moyen de l'absorptivité millimolaire du NADH, fixée à 6,22 à 340 nm dans les conditions d'essai décrites.

Calcul (Exemple)

Une unité internationale (UI/L) est définie comme la quantité d'enzyme qui catalyse la transformation d'une micromole de substrat par minute dans des conditions spécifiées.

$$\text{ALT (UI/L)} = \frac{\Delta\text{Abs./Min.} \times 1.10 \times 1000}{6.22 \times 0.10 \times 1.0} = \Delta\text{Abs./min.} \times 1768$$

Où $\Delta\text{Abs./Min.}$ = Variation moyenne de l'absorbance par minute
1000 = Conversion des UI/ml en UI/L
1.10 = Volume total de réaction (ml)
6.22 = Absorbance millimolaire du NADH
0.10 = Volume d'échantillon (ml)
1.0 = Trajet lumineux en cm

Exemple : si le changement moyen d'absorbance par minute = 0,12, alors $0,12 \times 1768 = 212$ UI/L

NOTE : si les paramètres du test sont modifiés, le facteur doit être recalculé en utilisant la formule ci-dessus.

Unités SI : pour convertir en unités SI (nkat/L), multiplier UI/L par 16,67.

Contrôle qualité

La validité de la réaction doit être contrôlée à l'aide de sérums de contrôle dont les valeurs d'ALT (SGPT) sont connues comme normales et anormales. Ces contrôles doivent être effectués au moins à chaque période de travail au cours de laquelle des dosages d'ALT (SGPT) sont réalisés. Il est recommandé que chaque laboratoire établisse sa propre fréquence de détermination des contrôles. Les exigences en matière de contrôle qualité doivent être respectées conformément aux réglementations locales, nationales et/ou régionales ou aux exigences d'accréditation.

Valeurs attendues ⁹

4 à 24 UI/L (30°C)

4 à 36 UI/L (37°C)

Étant donné que les valeurs attendues sont influencées par l'âge, le sexe, le régime alimentaire et la situation géographique, il est vivement conseillé à chaque laboratoire d'établir sa propre plage de référence pour cette procédure.

Performance

1. Linéarité : 0-500 IU/L.
2. Comparaison : une étude a été réalisée entre la série Yumizen 200 et un analyseur similaire utilisant cette méthode, ce qui a donné un coefficient de corrélation de 0,999 et une équation de régression de $y=0,94x + 5,8$. (n=33).
3. Précision : des études de précision ont été réalisées avec l'analyseur de la série Yumizen 200 en suivant une modification des lignes directrices contenues dans le document EP5-T2 du NCCLS.¹⁰

Sur une exécution (n=20)

Moy.	S.D.	C.V.%
35.4	1.3	3.6
89.5	1.1	1.3

Au quotidien (n=20)

Moy.	S.D.	C.V.%
41.8	1.5	3.6
111.9	2.6	2.3

4. Sensibilité : la sensibilité de ce réactif a été étudiée en lisant le changement d'absorbance à 340 nm pour un échantillon salin et des sérums de concentrations connues. Dix répétitions ont été effectuées. Les résultats de cette étude ont indiqué que, sur l'analyseur utilisé, le réactif ALT (SGPT) présentait peu ou pas de dérive du réactif sur un échantillon zéro. Dans les conditions de réaction décrites, une activité ALT de 1 UI/L donne une valeur $\Delta\text{Abs/Min.}$ de 0,0004.

Références

1. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders co., p 674 & 675 (1982).
2. Henley, K.S., Pollard, H.M., J. Lab. Clin. Med. 46:785 (1955).
3. Wroblewski, F., La Due, J.S., Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 91:569 (1956).
4. Henry, R.J., et al, Am. J. Clin. Path. 34:381 (1960).
5. The Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology, Scand. J. Clin. Lab. Invest 32:291 (1974).
6. Clinica Chimica Acta 105:145F-172F (1980).
7. Henry, R.J., Clinical Chemistry: Principles and Technics, Harper & Row, NY, P522 (1968).
8. Young, D.S., et al, Clin. Chem. 21:1D (1975).
9. Henry, J.B., Clinical Diagnosis & Management by Laboratory Methods, W.B. Saunders Co., Philadelphia, P1437 (1984).
10. NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

Symbol Key

Use by (YYYY-MM-DD)	LOT Lot and batch code
REF Catalog number	Manufacturer
IVD In vitro diagnostic medical device	Temperature limitation
Consult instructions for use	Rx Only: Prescription Use Only
CE mark	EC REP Authorized representative in the European Community

12-A7526-100 Manufactured by HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand 5449 Research Drive Canton, MI 48188

Manufactured by HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

European Authorized Representative:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Brussels, BELGIUM

Tel: (32)2.732.59.54 Fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



Certifié pour l'utilisation des réactifs

Les réactifs Pointe sont certifiés comme étant fabriqués selon les paramètres spécifiés. Tout produit réactif Pointe non conforme aux spécifications jusqu'à sa date de péremption sera remplacé immédiatement et sans frais.