

Uso previsto

Determinazione quantitativa dell'alanina aminotransferasi (ALT) nel siero umano utilizzando gli analizzatori Yumizen C230 e Yumizen C240. **Solo su prescrizione.**

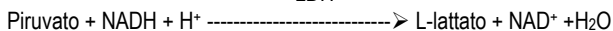
Interesse clinico

L'enzima ALT è diffusamente presente nei tessuti, ma si trova in concentrazioni più elevate nel fegato e nei reni. Tuttavia, l'ALT è considerato più specifico per il fegato rispetto all'AST. Livelli elevati di ALT si osservano spesso solo in patologie epatiche come la cirrosi, l'epatite o il carcinoma metastatico. Si possono riscontrare livelli elevati di ALT anche in caso di mononucleosi infettiva, distrofia muscolare e dermatomiosite.¹

Storia del metodo diagnostico

I metodi UV per la rilevazione dell'ALT sono stati descritti da Henley² nel 1955 e da Wroblewski e La Due³ nel 1956. La procedura venne poi migliorata e ottimizzata da Henry et al⁴ nel 1960. Nel 1974, la Commissione Enzimi della Società scandinava di chimica e fisiologia clinica⁵ ha reso note e raccomandato metodologie di reazione ottimizzate. Nel 1980, la Federazione Internazionale di Chimica Clinica (IFCC)⁶ ha proposto un metodo di elezione che utilizza il dosaggio accoppiato LDH-NADH. La procedura qui descritta si basa su questo metodo.

Principio



L'ALT catalizza il trasferimento del gruppo amminico dalla L-alanina all' α -chetoglutarato con conseguente formazione di piruvato e L-glutamato. La lattato deidrogenasi catalizza la riduzione del piruvato e la contemporanea ossidazione del NADH a NAD. La diminuzione dell'assorbanza che ne risulta è direttamente proporzionale all'attività dell'ALT.

Reagenti

Dopo aver combinato R1 e R2, il reagente contiene: L-alanina >450mM, acido α -chetoglutarico >14mM, LDH(microbica) >2000IU/L, NADH >0,18mM, tampone, sodio azide 0.28%, stabilizzatori.

Preparazione dei reagenti

I reagenti sono pronti all'uso.

Conservazione dei reagenti

Conservare i reagenti a 2-8°C. Se conservati seguendo le raccomandazioni, i reagenti sono stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta.

Deterioramento dei reagenti

Non utilizzare il reagente se:

- L'assorbanza iniziale a 340nm è inferiore a 0,800.
- Il reagente non rispetta i parametri indicati.

Precauzioni

- Il reagente può essere utilizzato esclusivamente a fini diagnostici *in vitro*.
- Il reagente contiene sodio azide (0,28%) come conservante. Non ingerire. Può reagire con piombo e rame e formare un complesso metallo-azide altamente esplosivo. Pertanto, per smaltire residui di reagente, occorre diluirli con abbondante acqua per evitare che l'azide si depositi.

Raccolta e conservazione dei campioni

- Non utilizzare i campioni emolizzati poiché i globuli rossi contengono ALT.⁷
- L'ALT nel siero resta stabile per tre giorni a temperatura ambiente (15-30°C), sette giorni in frigorifero (2-8°C) e trenta giorni in congelatore (-20°C).⁷

Interferenze

- Numerosi farmaci e sostanze alterano l'attività dell'ALT. Si veda Young, et al.⁸

- È stato riscontrato che concentrazioni di bilirubina pari a 30 mg/dl e di emoglobina pari a 400 mg/dl hanno un effetto trascurabile sulla procedura

Materiali in dotazione

Reagenti ALT (SGPT) R1 e R2

Materiali necessari non in dotazione

- Analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240
- Manuale utente per gli analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240.
- Controllo chimico, numero di catalogo C7592-100

Parametri di analisi

Analisi:	ALT	Sostanza chim.:	ALT
N. chim.:	202	Nome etichetta:	ALT
Tipo reazione:	cinetica	Direzione reazione:	negativa
Lungh. d'onda prim.:	340 nm	Lungh. d'onda sec.:	405 nm
Decimale:	0	Tipo campione:	siero
T. bianco:		T. reazione:	3 11
Unità:	U/L	T. incubazione:	3

	Vol. campione	Aspirato	Diluente	Vol. reagente	Diluente
Standard:	9	ul	ul	R1: 180	ul
Decremento: ul		ul	ul	R2: 45	u/l
Incremento:		ul	ul		u/l

Intervallo linearità (standard):	0-300	Limite linearità:	0.3
Intervallo linearità (decremento):		Esaurim. substrato:	5000
Intervallo linearità (incremento):		Assorb. bianco mix:	- 40000 40000
Assorb. bianco R1:	- 40000 40000	Stabilità in macchina:	30 Giorni
Risposta bianco	- 40000 40000	Limite allarme reagente:	5
Doppia chim.:			

Controllo eff. prozona:		
Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Risultato qualitativo:	Intervallo:	Val. fuori norma:
------------------------	-------------	-------------------

Pendenza Offset:			
Pendenza	Offset	Unità	
1	0	U/L	

Tratt. preliminare:			
Vol. campione pretratt.:	ul	Vol. reagente pretratt.:	ul

Intervallo rif.:			
Tipo campione:	Sesso:	Intervallo età:	Intervallo rif. Intervallo critico: Unità:

Parametri di configurazione della calibrazione

Analisi chim.	ALT	Calibratore	Conc.	Pos.	N. lotto:
Impostazioni calibr.		acqua	0,0	W	
Modello mat.:	Fattore K				
Fattore:	4700.000				
Repliche:	2				
Limiti accettabilità					
T. calibr.:	24 h				
Diff. pendenza:	DS:				
Sensibilità:	Ripetibilità				*Def. utente
Coeff. deter.:					
Calibr. autom.	T. calibr.				

Limitazioni

Kit reagenti ALT (SGPT) Pointe

1. Campioni torbidi o fortemente itterici possono avere un'assorbanza iniziale superiore alle capacità dello spettrofotometro. È possibile ottenere risultati più precisi utilizzando 0,05 ml (50ul) di campione e moltiplicando la risposta finale per 2.
2. I campioni con valori superiori a 500 U/l andrebbero diluiti 1:1 con soluzione fisiologica, nuovamente analizzati e i risultati andrebbero moltiplicati per 2.

Calibrazione

La procedura è standardizzata mediante l'assorbività millimolare della NADH, considerata pari a 6,22 a 340nm nelle condizioni di analisi descritte.

Calcolo (esempio)

Un'unità internazionale (U/L) è definita come la quantità di enzima che catalizza la trasformazione di una micromole di substrato al minuto in determinate condizioni.

$$\text{ALT (U/l)} = \frac{\Delta\text{abs./min.} \times 1,10 \times 1000}{6,22 \times 0,10 \times 1,0} = \Delta\text{abs./min.} \times 1768$$

con $\Delta\text{abs./min.}$ = variazione media di assorbanza al minuto
1000 = conversione di U/ml in U/l
1,10 = volume di reazione totale (ml)
6,22 = assorbività millimolare della NADH
0,10 = volume del campione (ml)
1,0 = percorso luce in cm

Esempio: Se la variazione media di assorbanza al minuto = 0,12 allora $0,12 \times 1768 = 212$ U/l

NOTA: Se i parametri di analisi vengono modificati, il fattore deve essere ricalcolato utilizzando la formula riportata sopra.

Unità del SI: Per convertire in unità del SI (nkat/l), moltiplicare U/l per 16,67.

Controllo qualità

La bontà della reazione va monitorata utilizzando sieri di controllo con valori normali e patologici noti di ALT (SGPT). I controlli vanno eseguiti in ogni turno in cui si effettuano i test ALT (SGPT). Si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca la frequenza interna dei controlli. Il controllo qualità richiesto va eseguito in conformità con le normative locali, statali e/o federali o con i requisiti di accreditamento.

Valori attesi⁹

4 - 24 U/l (a 30°C)

4 - 36 U/l (a 37°C)

Poiché i valori attesi variano in funzione di età, sesso, alimentazione, area geografica, si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca il proprio intervallo di riferimento per la procedura.

Prestazioni

1. Linearità: 0-500 U/l.
2. Comparazione: È stato condotto uno studio comparativo tra l'impiego dell'analizzatore Yumizen serie 200 e di un analizzatore simile per l'applicazione del metodo. Si è ottenuto un coefficiente di correlazione di 0,999 e un'equazione di regressione $y = 0,94x + 5,8$ (n=33).
3. Precisione: gli studi sulla precisione sono stati condotti seguendo una modifica delle linee guida contenute nel documento EP5-T2 dell'istituto NCCLS e utilizzando analizzatori Yumizen serie 200.¹⁰

Intra saggio (n=20)

Media	D.S.	C.V.%
35,4	1,3	3,6
89,5	1,1	1,3

Inter-giornaliera (n=20)

Media	D.S.	C.V.%
41,8	1,5	3,6
111,9	2,6	2,3

4. Sensibilità: La sensibilità di questo reagente è stata studiata leggendo la variazione dell'assorbanza a 340 nm per un campione di soluzione fisiologica e per campioni e siero con concentrazioni note. Sono state eseguite dieci repliche. I risultati di questa indagine hanno indicato che, sull'analizzatore utilizzato, il reagente ALT (SGPT) ha mostrato una deriva minima o nulla sul campione zero. Nelle condizioni di reazione descritte, l'attività di 1 U/l di ALT dà un $\Delta\text{abs./min.}$ di 0,0004.

Riferimenti bibliografici

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. Documento NCCLS "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

Legenda

Utilizzare entro (aaaa-mm-gg)	LOT Codice lotto e gruppo
REF N. catalogo	Fabbricante
IVD Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>	Limiti di temperatura
Consultare il manuale utente	Rx Only: utilizzare solo su prescrizione
CE Marchio CE	EC REP Rappresentante autorizzato per la Comunità Europea

REF 12-A7526-100	Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand 5449 Research Drive Canton, MI 48188		IVD
Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand 5449 Research Drive, Canton, MI 48188			
Rappresentante autorizzato per l'Europa: Obelis s.a. Boulevard Général Wahis 53 1030 Bruxelles, BELGIO		tel: (32)2.732.59.54 fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net	

Reagenti certificati

I reagenti Pointe sono certificati per essere stati prodotti conformemente ai parametri specificati. Se entro la data di scadenza un reagente Pointe dovesse risultare non conforme alle specifiche, sarà prontamente sostituito senza alcun addebito.