COD 11832 1 x 50 mL	COD 11533 1 x 200 mL	COD 11568 1 x 500 mL	COD 11562 1 x 1 L
CONSERVARE A 2-8ºC			
Reattivi per misurare la concentrazione di ALT/GPT Solo per uso *in vitro* nel laboratorio clinico			

ALANINE AMINOTRANSFERASE (ALT/GPT)

BioSystems

CE

ALANINA AMINOTRANSFERASI (ALT/GPT)
IFCC

PRINCIPIO DEL METODO

La alanina aminotransferasi (ALT o GPT) catalizza il passaggio del gruppo amino dall' alanina al 2-ossoglutarato, formando piruvato e glutamato. La concentrazione catalitica viene determinata, impiegando la reazione accoppiata della lattato desidrogenasi (LDH), a partire dalla velocità di consumo del NADH, letto a 340 nm[1,2,3].

$$\text{Alanina} + 2 - \text{Ossoglutarato} \xrightarrow{\text{ALT}} \text{Piruvato} + \text{Glutamato}$$

$$\text{Piruvato} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{LDH}} \text{Lactato} + \text{NAD}^+$$

CONTENUTO

	COD 11832	COD 11533	COD 11568	COD 11562
A. Reattivo	1 x 40 mL	1 x 160 mL	1 x 400 mL	1 x 800 mL
B. Reattivo	1 x 10 mL	1 x 40 mL	1 x 100 mL	1 x 200 mL

COMPOSIZIONE

A. Reattivo: Tris 150 mmol/L, L-alanina 750 mmol/L, lattato deidrogenasi > 1350 U/L, pH 7,3.

B. Reattivo: NADH 1,9 mmol/L, 2-ossoglutarato 75 mmol/L, idrossido sodico 148 mmol/L, sodio azide 9,5 g/L.

ATTENZIONE: H302: Nocivo se ingerito. EUH031: A contatto con acidi libera gas tossici. P301+P312: IN CASO DI INGESTIONE accompagnata da malessere: contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. P330: Sciacquare la bocca.

CONSERVAZIONE

Conservare a 2-8ºC.

I Reattivi sono stabili sino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, purchè conservati ben chiusi e si eviti la contaminazione durante l'uso.

Indicaciones de deterioro:

– Reattivi: Presenza di particelle, torbidità, assorbanza del bianco inferiore a 1,400 a 340 nm (cuvetta da 1 cm).

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Applicare le normali precauzioni necessarie per maneggiare tutti i reagenti di laboratorio. Scheda dati di sicurezza disponibile per utenti professionisti su richiesta. Lo smaltimento di tutto il materiale di scarto deve essere effettuato in conformità alle linee guida locali. Eventuali incidenti gravi che potrebbero verificarsi in relazione al dispositivo devono essere segnalati a BioSystems S.A.

REATTIVI AUSILIARI

Reattivo (C) (cod 11667): Fosfato di piridossale ALT 10 mmol/L. 5 mL.

PREPARAZIONE DEI REATTIVI

Reattivo di Lavoro: Versare il contenuto del flacone B nel flacone A. Agitare delicatamente. Se si desidera preparare altri volumi, mescolare nella proporzione: 4 mL di Reattivo A + 1 mL de Reattivo B (Nota 1). Stabile 1 mes a 2-8ºC.

Reattivo di Lavoro con Fosfato di Piridossale (Nota 2): Mescolare nella proporzione: 10 mL di Reattivo di Lavoro + 0,1 mL di Reattivo C (cod 11666). Stabile 6 giorni a 2-8ºC.

MATERIALE AGGIUNTIVO

– Analizzatore, spettrofotometro o fotometro con cuvetta termostatabile a 37ºC per letture a 340 nm.

– Cuvette da 1 cm di cammino ottico.

CAMPIONI

Siero e plasma prelevati mediante procedimenti standard.

La alanino aminotransferasi nel siero e nel plasma è stabile per 7 giorni a 2-8°C. L'eparina o EDTA devono essere utilizzati come anticoagulante[7].

PROCEDURA

1. Preriscaldare il Reattivo di Lavoro e lo strumento alla temperatura di reazione.
2. Pipettare in una cuvetta: (Nota 3).

Temperatura di reazione	37ºC
Reattivo di Lavoro Campione	1,0 mL 50 µL

3. Mescolare ed inserire la cuvetta nel fotometro. Avviare il cronometro..
4. Dopo 1 minuto (Nota 1), annotare l' assorbanza iniziale ed effettuare nuove letture ogni minuto per 3 minuti.
5. Calcolare l' incremento medio d' assorbanza per minuto (ΔA/min).

CALCOLI

La concentrazione di ALT/GPT nel sampione viene calcolata a partire dalla seguente formula generale:

$$\Delta A/\text{min} \times \frac{Vt \times 10^6}{\varepsilon \times l \times VS} = U/L$$

Il coefficiente di estinzione molare (ε) del NADH a 340 nm è 6.300, il cammino ottico (l) è 1 cm, il volume totale di reazione (Vt) è 1,05 a 37ºC, il volume di campione (Vs) è 0,05 a 37ºC e 1 U/L equivale a 0,0166 µkat/L.

Si deducono i seguenti fattori per calcolare la concentrazine catalitica:

	37ºC
ΔA/min	x 3333 = U/L x 55,55 = µkat/L

VALORI DI RIFERIMENTO

Temperatura di reazione	37ºC
Senza piridossalfosfato,fino[3] Con piridossalfosfato,fino[1]	41 U/L = 0,68 µkat/L 65 U/L = 1,08 µkat/L

Questi valori si danno unicamente a titolo orientativo ; si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca i propri intervalli di normali di riferimento.

CONTROLLO DI QUALITA'

Si raccomanda l'uso di Siero di Controllo Titolato livello I (Cod. 18005, 18009 e 18042) e II (Cod. 18007, 18010 e 18043) per verificare la funzionalità del procedimento di misura.

Ogni laboratorio deve stabilire il proprio programma di Controllo di Qualità interno, cosí come procedimenti di correzione nel caso i controlli non corrispondano con le tolleranze accettabili.

CARATTERISTICHE METROLOGICHE

– Limite di rilevazione: 1,6 U/L = 0,027 µkat/L

– Limite di linearità: 800 U/L = 13,3 µkat/L. Qualora si ottengano valori superiori, diluire il campione 1/10 con acqua distillata e ripetere la determinazione.

– Ripetibilità (nella serie):

Concentrazione media	CV	n
43 U/L = 0,72 µkat/L	1,8 %	20
192 U/L = 3,2 µkat/L	2,8 %	20

– Riproducibilità (fra le serie):

Concentrazione media	CV	n
43 U/L = 0,72 µkat/L	5,3 %	25
192 U/L = 3,2 µkat/L	2,7 %	25

– Sensibilità analitica: 0,3 ΔmA·L/U·min = 0,00502 ΔmA·L/µkat·min

– Veracità: I risultati ottenuti con questi reattivi non mostrano differenze sistematiche significative se comparati con reattivi di riferimento. I dettagli dello studio comparativo sono disponibili a richiesta.

– Interferenze: L' emolisi (emoglobina 10 g/L) e la bilirubina (20 mg/dL) non interferiscono. La lipemia (trigliceridi 2 g/L) può invalidare i risultati. Altri farmaci e sostanze possono interferire[4].

Questi dati sono stati ottenuti utilizzando un analizzatore. I risultati possono variare al cambiare di strumento o realizzando il procedimento manualmente.

CARATTERISTICHE DIAGNOSTICHE

Le aminotransferasi catalizzano la formazione di acido glutammico a partire dal 2-ossoglutarato mediante la trasformazione dei gruppi amino. La ALT si riscontra in diversi tessuti ma le sue maggiori concentrazioni sono nel fegato e reni.

Si riscontrano concentrazioni seriche elevate di ALT nell' epatite e altre malattie epatiche associate a necrosi: mononucleosi infettva, cirrosi, colestasi, carcinoma metastasico del fegato, delirium tremens, ed in seguito alla somministrazione di taluni farmaci come oppiacei, salicilati o ampicilina[6,7].

Si riscontrano concentrazioni seriche elevate di ALT in seguito ad infarto del miocardio, malattie del muscolo scheletrico[6,7].

La diagnosi clinica non può essere fatta tenendo conto del risultato di un unico esame, ma deve integrare i dati clinici e di laboratorio.

NOTE

1. L'assorbanza iniziale del mix di reazione potrebbe non rientrare nel rango normale in alcuni fotometri con un valore massimo minimo dell'assorbanza. Per questi fotometri, si consiglia di preparare il reagente di lavoro con la seguente proporzione: 5 mL di Reagente A + 1 mL di Reagente B.
2. La IFCC raccomanda l' utilizzo di fosfato di piridossale. In questo caso, il tempo di preincubazione prima di cominciare le letture, deve essere aumentato a 2 minuti.
3. Questi reattivi possono essere utilizzati sulla maggior parte degli analizzatori automatici. Sollecitate informazione al vostro distributore.

BIBLIOGRAFIA

1. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37˚C. Part 4. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alanine aminotransferase. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40: 718-724.
2. IFCC reference procedures for measurement of catalytic concentrations of enzymes: corrigendum, notes and useful advice. *Clin Chem Lab Med* 2010; 48: 615-621.
3. Gella FJ, Olivella T, Cruz Pastor M, Arenas J, Moreno R, Durban R and Gómez JA. A simple procedure for routine determination of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase with pyridoxal phosphate. *Clin Chim Acta* 1985; 153: 241-247.
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.
6. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
7. Word Health Organization (WHO). Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations. Document WHO/DIL/LAB/99.1, Rev.2; 2002.

BioSystems S.A. Costa Brava, 30. 08030 Barcelona (Spain)
www.biosystems.global