

REF 10205-4 4 X 31 ml/ 7 ml

ALANINE AMINOTRANSFÉRISE (ALAT)

Chaque cartouche contient un volume utilisable de 31 ml de réactif R1. La bouteille de 10 ml contient 7 ml de réactif R2.

UTILISATION PRÉVUE

Le réactif ALAT EasyRA permet de déterminer la quantité d'alanine aminotransférase dans le sérum le plasma humains (avec de l'héparine de lithium comme anticoagulant), grâce à « l'analyseur de chimie clinique Medica EasyRA® ». Pour diagnostic *in vitro* uniquement. Réservé à un usage professionnel.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

L'alanine aminotransférase est une enzyme intracellulaire impliquée dans le métabolisme des acides aminés et des glucides, qui est libérée avec les lésions tissulaires. Les mesures de l'alanine aminotransférase sont utilisées dans le diagnostic et le traitement de certaines maladies hépatiques (hépatite virale et cirrhose, par exemple). Dans la nécrose hépatique, l'augmentation du taux d'alanine aminotransférase intervient avant l'apparition de la jaunisse.¹

PRINCIPE DE LA PROCÉDURE

Cette méthode est basée sur les procédures de Wroblewski et Ladue,² qui reposent sur l'oxydation de NADH par la lactate déshydrogénase (LDH). Ce réactif est issu de modifications des méthodes IFCC³ et Bergmeyer.⁴

ALAT

α -Kétoglutarate + L-Alanine $\rightarrow$ L-Glutamate + Pyruvate

LDH

Pyruvate + cofacteur réduit + H⁺ $\rightarrow$ Lactate + cofacteur

Le taux de la diminution de l'absorbance du mélange réactionnel à 340 nm, due à l'oxydation du cofacteur réduit, est directement proportionnel à l'activité de l'alanine aminotransférase dans l'échantillon.

RÉACTIFS

Réactif R1 (tampon réagissant à l'ALAT) :

L-Alanine	500 mmol/l
LDH (muscle de lapin)	1200 U/l
Tampon tris, pH 7,5	100 mmol/l

Réactif R2 (substrat réagissant à l'ALAT) :

α -Kétoglutarate	15 mmol/l
NADH, sel disodique	0,18 mmol/l

Ingrédients non-réactifs :

Tampons, stabilisants et conservateur.

PRÉCAUTIONS

1. Les bonnes pratiques de sécurité en laboratoire doivent être respectées lors de la manipulation des réactifs de laboratoire. (CLSI, GP17-A2).
2. Les réactifs contiennent moins de 0,1 % d'azoture de sodium. Néanmoins, cette substance peut réagir violemment au contact du plomb et du cuivre contenus dans le système de plomberie, et former des azides métalliques explosifs. Consulter la fiche de données de sécurité pour obtenir des informations sur les risques, les dangers et la sécurité.
3. Comme pour toute procédure de test diagnostique, l'interprétation des résultats doit tenir compte des résultats de tous les autres tests ainsi que de l'état clinique du patient.
4. Ne pas utiliser de cuvettes abîmées.

INSTRUCTIONS CONCERNANT LA MANIPULATION, LE STOCKAGE ET LA STABILITÉ DU RÉACTIF

Les réactifs R1 et R2 doivent être placés ensemble dans la cartouche avant utilisation. Les réactifs non ouverts sont stables jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette, à condition d'être stockés entre 2 et 8 °C. Le réactif de travail, conservé à bord de l'analyseur EasyRA dans le compartiment réfrigéré du réactif, est stable pendant le nombre de jours programmés dans la puce RFID sur la cartouche de réactif. Ne pas utiliser le réactif s'il est trouble ou nuageux, ou s'il ne parvient pas à retrouver les valeurs de contrôle sérique connues.

PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS, STOCKAGE/STABILITÉ

Des tubes enduits d'héparine de lithium peuvent être utilisés pour le prélèvement du plasma. Utiliser des échantillons clairs non hémolysés. Ne pas utiliser d'échantillons lipémiques. L'ALAT sérique est stable pendant 24 heures entre 18 et 25 °C, et pendant 7 jours entre 2 et 8 °C.⁵

Limites et interférences des additifs présents dans les tubes de prélèvements

Éviter l'hémolyse, car la concentration en alanine aminotransférase dans les globules rouges est environ de 3 à 5 fois supérieure à celle du sérum.⁶

PROCÉDURE

Matériel fourni

Cartouche / flacon R2 de réactif Medica ALT, REF 10205

Matériel auxiliaire nécessaire

Medica EasyQC®, Niveau A – Chimie/Électrolytes, REF 10793

Medica EasyQC, Niveau B – Chimie/Électrolytes, REF 10794

Cartouche de colorant pour test de précision Medica, REF 10764

Cartouche de nettoyeur Medica – Chimie et électrodes sélectives, REF 10660 *ou*

Cartouche de nettoyeur Medica – Chimie, REF 10661

Mode d'emploi

Les réactifs R1 et R2 doivent être placés ensemble dans la cartouche avant utilisation. Le réactif R1 est dans la cartouche. Ajouter tout le contenu de la petite bouteille de réactif R2 dans la cartouche. Avant utilisation, bien mélanger le contenu en versant la cartouche. 38 ml de réactif de travail utilisable seront ainsi obtenus. Retirer le bouchon et placer le réactif de travail dans le plateau de l'analyseur EasyRA, situé dans le compartiment approprié de la cartouche. La stabilité (44 jours maximum) du réactif de travail à bord est programmée dans la puce RFID sur la cartouche de réactif.

Remarque : vérifier l'absence de mousse au niveau du collet de la cartouche après avoir retiré le bouchon et placé la cartouche sur l'analyseur. S'il y a de la mousse, procéder à son élimination à l'aide d'un écouvillon ou d'une pipette jetable avant d'effectuer le test.

Étalonnage

Non applicable.

Contrôle de qualité

Il est recommandé d'inclure deux niveaux de contrôle (normal et anormal) à base de sérum quotidiennement lors des tests patient et à chaque changement de numéro de lot de réactifs. Si les résultats du matériel de contrôle du dosage ne correspondent pas à l'intervalle de valeurs attendues, cela peut indiquer la présence d'une dégradation du réactif, d'un mauvais fonctionnement de l'instrument ou d'erreurs survenues au cours de la procédure. Le laboratoire doit respecter les réglementations locales, d'état et fédérales en matière de contrôle de qualité, lorsqu'il en utilise le matériel.

Résultats

Une fois le dosage terminé, l'analyseur EasyRA calcule la concentration en alanine aminotransférase à partir des modifications de l'absorbance par minute, du volume de l'échantillon, du volume réactionnel total, de la longueur de cheminement (cm) de 0,6 et de l'absorptivité molaire de 6,22.

$$\text{ALAT (U/l)} = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{Volume total } (\mu\text{l}) \times 1000)}{(\text{Absorptivité molaire} \times \text{Longueur de cheminement (cm)} \times \text{Volume de l'échantillon } (\mu\text{l}))}$$

VALEURS ATTENDUES⁵

L'intervalle des valeurs de référence pour l'alanine aminotransférase sérique est le suivant :

Homme adulte :	de 10 à 40 U/l
Femme adulte :	de 7 à 35 U/l
Nouveau-né :	de 13 à 45 U/l

Ces valeurs sont fournies à titre indicatif. Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir son propre intervalle de valeurs attendues, compte tenu des différences qui existent entre les instruments, les laboratoires et les populations locales.

Limites de la procédure (si les valeurs de l'échantillon sont au-dessus de la limite supérieure de l'intervalle, par exemple)

Utiliser uniquement des échantillons de sérum non hémolysé.

Si les modifications de l'absorbance par minute ($\Delta A/\text{Min}$) sont supérieures à 0,032, ce qui correspond à 500 U/l, l'analyseur le signal par les lettres « SD » (déplétion du substrat). Si l'icône de « répétition » est sélectionnée par l'opérateur, l'échantillon peut être à nouveau testé avec la moitié (1/2) de son volume. Le calcul des résultats issus de la répétition du test prend en compte la diminution de la taille de l'échantillon. Cela aura pour conséquence d'allonger l'intervalle rapporté du dosage de l'alanine aminotransférase jusqu'à 1 000 U/l.

CARACTÉRISTIQUES DES PERFORMANCES⁷

Intervalle rapporté

L'intervalle rapporté est compris entre 5,0 et 500 U/l. Il est compris entre 5,0 et 1 000 U/l lorsque la moitié de l'échantillon est utilisée (dilution à 1:1).

Inexactitude/corrélation (CLSI, EP9-A2)

Le tableau suivant regroupe les données obtenues lors d'une comparaison de la performance entre le nouveau réactif ALAT Medica (y) avec l'analyseur EasyRA et l'ancien réactif ALAT (x) avec l'analyseur EasyRA. Les données fournies ci-dessous correspondent à des dosages uniques obtenus avec le nouveau réactif ALAT Medica sur l'analyseur EasyRA versus la moyenne des valeurs d'échantillons déterminés en double et obtenues avec l'ancien réactif ALAT Medica sur l'analyseur EasyRA.

Nombre d'échantillons	80	Intervalle d'échantillons	11,5 à 455,1 U/l
Courbe	1,0239	Intersection avec l'axe des Y	0,8187
Coefficient de corrélation	0,9996	Équation de régression	$Y = 1,0239 \times X - 0,8187$

Le tableau suivant regroupe les données obtenues en comparant des échantillons équivalents de sérum (x) et de plasma (y) à l'aide du réactif ALAT Medica sur l'analyseur EasyRA. Les données ci-dessous comparent un dosage unique du plasma versus la moyenne des valeurs d'échantillons de sérum déterminées en double.

Nombre d'échantillons	60	Intervalle d'échantillons	de 7,6 à 449,3 U/l
Courbe	1,0027	Intersection avec l'axe des Y	-0,4762
Corrélation	0,9992	Équation de régression	$Y = 1,0027 \times X - 0,4762$

Imprécision (CLSI, EP5-A2)

Des mesures doubles de chacun des trois niveaux du matériel de contrôle de qualité ont été testées deux fois par jour pendant 20 jours. La précision intra-série et la précision totale ont été déterminées à partir de ces données.

Imprécision intra-série :

Niveau du contrôle de qualité U/l	DS intra-série U/l	CV intra-série %
205,2	1,91	0,93
90,7	1,52	1,68
27,4	0,75	2,72

Imprécision totale :

Niveau du contrôle de qualité U/l	Imprécision totale DS U/l	Imprécision totale CV %
205,2	3,02	1,47
90,7	1,95	2,16
27,4	1,00	3,65

Linéarité (CLSI, EP6-A)

Linéarité comprise entre 5,0 et 500 U/l, en fonction de l'équation de régression linéaire $Y = 0,998 \times X + 1,2333$

Limite du blanc (LdB) :	2,4 mg/dl	(CLSI, EP17-A)
Limite de détection (LD) :	4,2 mg/dl	(CLSI, EP17-A)

Substances interférentes (CLSI, EP7-A)

Une interférence inférieure à 10 % est désignée par « aucune interférence significative ».

Il existe une interférence significative liée à l'hémolyse. Éviter l'hémolyse, car la concentration en alanine aminotransférase dans les globules rouges est environ 5 fois supérieure à celle du sérum.⁶ Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés.

Aucune interférence significative n'a été observée pour un taux de bilirubine allant jusqu'à 28 mg/dl.

Aucune interférence significative n'a été observée pour un taux de triglycérides allant jusqu'à 1500 mg/dl (à l'aide du produit Intralipid*).

*Intralipid est une marque déposée de Pharmacia AB à Clayton, Caroline du Nord.

Young fournit une liste de médicaments et autres substances qui interfèrent avec les tests cliniques chimiques.^{8,9}

RÉFÉRENCES

- 1 Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Co.; 1994: 790-791.
- 2 Wroblewski, F. and LaDue, J.S., Proc. Soc. Exper. Biol. And Med. 91:569 (1956).
- 3 International Federation of Clinical Chemistry, Provisional Concentrations of Enzymes, Clin Chem 23: 887, 1977.
- 4 Bergmeyer HU, Scheibe P, Wahlefeld, AW: Optimization of methods for aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase. Clin Chem 24: 58, 1978.
- 5 Burtis, C.A., Ashwood, E.R. (Ed.) Tietz Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Co. Toronto, p 1800 (1999).
- 6 Henry R.J. Clinical Chemistry-Principles and Technics. New York, NY: Harper & Row; 1974: 881, 888.
- 7 Documentation de Medica.
- 8 Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests 4th ed. Washington, DC: AACC Press, 1995.
- 9 Young DS. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests. 2nd ed. Washington, DC. AACC Press, 1997.

Paramètres du dosage (ALAT) EasyRA

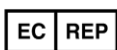
Longueur d'onde (nm)	340/405 nm
Mode réactionnel	Enzyme (0)
Sens réactionnel	Décroissant
Blanc du réactif	Non
Blanc de l'échantillon	Non
Modif. max du premier intervalle de l'absorbance	0,032
Durée de la réaction	5,6 min
Intervalle d'étalonnage (maximum)	N/A
Stabilité du réactif à bord	44 jours

Sérum / Plasma

Volume de l'échantillon (µl)	8,0
Volume du diluant (µl)	32
Volume du réactif (µl)	152
Emplacements décimaux (par défaut)	1
Unités (valeurs par défaut)	U/l
Facteur de dilution	1:1 (pour augmenter l'intervalle de dosage)
Linéarité	5,0 jusqu'à 500 U/l
Absorptivité molaire	6,22



Medica Corporation, 5 Oak Park Drive
Bedford, MA 01730-1413 USA



Emergo Europe, Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague, The Netherlands