

REF 10205-4 4 X 31 ml/7 ml

ALANINA AMINOTRANSFERASI (ALT)

Flaconi contenenti ciascuno un volume utilizzabile di 31 ml di reagente R1; la fiala da 10 ml contiene 7 ml di reagente R2.

USO PREVISTO

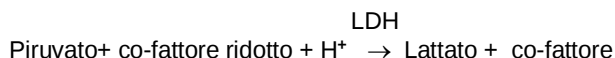
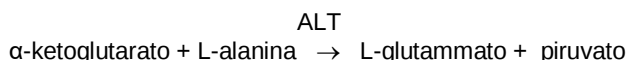
Il reagente EasyRA ALT è indicato per la misurazione quantitativa dell'attività dell'alanina aminotransferasi nel siero e nel plasma umani (con litio-eparina come anticoagulante) utilizzando l'analizzatore chimico clinico MEDICA EasyRA®. Solo per uso diagnostico *in vitro*. Solo per uso professionale.

RIEPILOGO E SPIEGAZIONE

L'alanina aminotransferasi è un enzima intra-cellulare coinvolto nel metabolismo degli amminoacidi e dei carboidrati e viene rilasciato in caso di danno tissutale. I dosaggi di alanina aminotransferasi vengono utilizzati nella diagnosi e nel trattamento di determinate patologie epatiche (come epatite virale e cirrosi). Nella necrosi epatica, l'innalzamento dell'alanina aminotransferasi si verifica prima della comparsa di ittero.¹

PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

Tale metodo si basa sulle procedure di Wroblewski e Ladue,² basato sull'ossidazione del NADH dalla lattato deidrogenasi (LDH). Il reagente si basa sulle modifiche dei metodi IFCC³ e Bergmeyer.⁴



La velocità di diminuzione nell'assorbanza della miscela di reazione a 340 nm, dovuta all'ossidazione del co-fattore ridotto, è direttamente proporzionale all'attività dell'alanina aminotransferasi nel campione.

REAGENTI

Reagente tampone per alanina aminotransferasi (R1)

L-alanina	500 mmol/l
LDH (muscolo del coniglio)	1200 U/L
Tampone Tris, pH 7,5	100 mmol/l

Reagente substrato per alanina aminotransferasi (R2)

α -ketoglutarato	15 mmol/l
NADH, sale bisodico	0,18 mmol/l

Ingredienti non reattivi:

Tamponi, stabilizzatori e conservante.

PRECAUZIONI

1. Seguire sempre buone prassi di sicurezza di laboratorio quando si maneggiano reagenti di laboratorio. (CLSI, GP17-A2).
2. I reagenti contengono meno dello 0,1% di azoturo di sodio, che potrebbe reagire con le tubature in rame e piombo formando accumuli altamente esplosivi di azidi metallici. Per informazioni su rischi, pericoli e sicurezza fare riferimento alle schede di sicurezza (SDS).
3. Come per qualunque altra procedura di test diagnostico, i risultati devono essere interpretati alla luce dei risultati prodotti da altri test e dello stato clinico del paziente.
4. Non utilizzare cuvette lavate.

ISTRUZIONI PER LA MANIPOLAZIONE, LA CONSERVAZIONE E LA STABILITÀ DEL REAGENTE

I reagenti R1 e R2 devono essere combinati nel flacone prima dell'uso. I reagenti in confezione chiusa si mantengono stabili fino alla data di scadenza presente sull'etichetta se conservati ad una temperatura di 2 - 8° C. Il reagente di lavoro rimane stabile on-board nel vano reagenti refrigerato nell'analizzatore EasyRA per il numero di giorni programmati sul chip RFID del flacone del reagente. Non usare il reagente qualora questo si presenti torbido od opaco o nel caso in cui non riesca a recuperare i valori noti di controllo del siero.

PRELIEVO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI / STABILITÀ

Per la raccolta del plasma è possibile utilizzare provette con rivestimento in litio-eparina. È necessario usare campioni puliti non emolizzati. La stabilità dell'alanina aminotransferasi sierica è di 24 ore ad una temperatura di 18 - 25° C e di 7 giorni a 2 - 8° C.⁵

Limiti e interferenza dei conservanti per le provette di raccolta

È necessario evitare l'emolisi, in quanto la concentrazione di alanina aminotransferasi nei globuli rossi è inferiore da 3 a 5 volte circa rispetto a quella del siero.⁶

PROCEDURA

Materiale fornito

Flacone di reagente/fiala R2 per alanina aminotransferasi Medica, REF 10205

Ulteriore materiale necessario

Medica EasyQC® Chimica/Elettroliti – Livello A, REF 10793

Medica EasyQC Chimica/Elettroliti – Livello B, REF 10794

Flacone per analisi colorimetrica di precisione Medica, REF 10764

Flacone di detergente Medica – Chimica e ISE, REF 10660, *oppure*

Flacone di detergente – Chimica, REF 10661

Istruzioni per l'uso

I reagenti R1 e R2 devono essere combinati nel flacone prima dell'uso. Il reagente R1 si trova nel flacone. Aggiungere l'intero contenuto del piccolo contenitore contenente il reagente R2 al flacone e miscelare bene capovolgendo il flacone prima dell'uso. Il reagente di lavoro utilizzabile sarà in totale di 38 ml dopo la miscelazione. Rimuovere il tappo sul reagente di lavoro e collocarlo nel piatto reagenti dell'analizzatore EasyRA situato nell'area reagente. La stabilità on-board (44 giorni massimo) del reagente di lavoro è programmata sul chip RFID del flacone del reagente.

Nota: verificare che non sia presente schiuma all'interno del collo del flacone dopo aver rimosso il tappo e averlo collocato sull'analizzatore. Qualora fosse presente schiuma, rimuoverla con un tampone o una pipetta monouso prima di eseguire il test.

Calibrazione

Non applicabile.

Controllo qualità

Si consiglia di eseguire due livelli di controllo del siero umano (normale e anomalo) con l'analisi almeno una volta al giorno quando si eseguono test su pazienti e ogni qual volta il lotto di reagenti cambia. Il mancato raggiungimento dell'intervallo corretto di valori nel test del materiale di controllo può essere indice di deterioramento del reagente, malfunzionamento dello strumento o errori procedurali. Quando viene utilizzato il materiale di controllo qualità, il laboratorio deve attenersi alla normativa locale, nazionale e federale in materia di controllo di qualità.

Risultati

Dopo aver completato l'analisi, l'analizzatore EasyRA calcola la concentrazione di alanina aminotransferasi dal cambiamento di assorbanza al minuto, dal volume del campione, dal volume di reazione totale, dalla lunghezza di 0,6 cm del cammino ottico e dalla assorbività molare di 6,22.

$$\text{ALT (U/L)} = (\Delta A/\text{min}) \times \frac{(\text{volume totale}(\mu\text{l}) \times 1000)}{(\text{assorbività molare} \times \text{cammino ottico (cm)} \times \text{volume campione}(\mu\text{l}))}$$

VALORI ATTESI⁵

L'intervallo di riferimento per l'alanina aminotransferasi serica è il seguente:

Maschio adulto:	10 - 40 U/L
Femmina adulta:	7 - 35 U/L
Neonato:	13 - 45 U/L

Tali valori rappresentano delle linee guida. Si consiglia a ciascun laboratorio di stabilire il proprio intervallo di valori attesi, in quanto esistono differenze tra strumenti, laboratori e popolazioni locali.

Limiti procedurali (ad es., se il campione è al di sopra dell'intervallo di misura)

Usare esclusivamente campioni di siero non emolizzato.

Se il cambiamento di assorbanza al minuto ($\Delta A/\text{min}$) è superiore a 0,032, corrispondente a 500 U/L, i risultati vengono contrassegnati con "SD" (deplezione substrato). Se l'icona di "Riesecuzione" viene selezionata, è possibile che il campione venga ritestato utilizzando la metà (1/2) del volume del campione. I risultati del test rieseguito vengono calcolati tenendo conto dell'uso di volumi inferiori del campione. In tal modo l'intervallo accettabile del test di alanina aminotransferasi viene esteso a 1.000 U/L.

CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE⁷

Intervallo accettabile

L'intervallo accettabile è compreso tra 5,0 e 500 U/L. L'intervallo esteso è compreso tra 5,0 e 1.000 U/L quando viene usata la metà del campione (fattore di diluizione 1:1).

Imprecisione/Correlazione (CLSI, EP9-A2)

La tabella seguente elenca i dati ottenuti in un confronto del nuovo reagente per alanina aminotransferasi Medica (y) su un analizzatore EasyRA alla prestazione del reagente per alanina aminotransferasi precedente (x) sull'analizzatore EasyRA. I dati di seguito illustrati rappresentano le singole determinazioni ottenute con il nuovo reagente per alanina aminotransferasi Medica sull'analizzatore EasyRA rispetto alla media di due valori ripetuti ottenuti con il reagente per alanina aminotransferasi Medica precedente sull'analizzatore EasyRA.

Numero di campioni	80	Intervallo dei campioni	da 11,5 a 455,1 U/L
Pendenza	1,0239	Intercetta y	-0,8187
Coefficiente di correlazione	0,9996	Equazione di regressione	$Y = 1,0239 \cdot X - 0,8187$

La tabella seguente elenca i dati ottenuti in un confronto di campioni abbinati di siero (x) e plasma (y) con il reagente per alanina aminotransferasi Medica sull'analizzatore chimico Medica EasyRA. I dati che seguono rappresentano una sola misurazione del plasma rispetto alla media di due valori replicati del siero.

Numero di campioni	60	Intervallo dei campioni	da 7,6 a 449,3 U/L
Pendenza	1,0027	Intercetta y	-0,4762
Coefficiente di correlazione	0,9992	Equazione di regressione	$Y = 1,0027 \cdot X - 0,4762$

Imprecisione (CLSI, EP5-A2)

Le misurazioni duplicate di ciascuno dei tre livelli di materiale di controllo qualità sono state analizzate due volte al giorno per 20 giorni. Da questi dati sono state determinate sia la precisione intra-serie che quella totale.

Imprecisione intra-serie:

Livello QC U/L	SD intra-serie U/L	CV intra-serie %
205,2	1,91	0,93
90,7	1,52	1,68
27,4	0,75	2,72

Imprecisione totale:

Livello QC U/L	SD imprecisione totale U/L	CV imprecisione totale %
205,2	3,02	1,47
90,7	1,95	2,16
27,4	1,00	3,65

Linearità (CLSI, EP6-A)

Lineare da 5,0 a 500 U/L, basata sulla regressione lineare $Y = 0,998 \cdot X + 1,2333$

Limite di vuoto:	2,4 U/L	(NCCLS, EP17-A)
Limite di rilevamento:	4,2 U/L	(NCCLS, EP17-A).

Sostanze interferenti (NCCLS, EP7-A)

Le interferenze inferiori al 10% sono state classificate come "non significative".

L'interferenza con l'emolisi si presenta significativa. È necessario evitare l'emolisi, in quanto la concentrazione di alanina aminotransferasi nei globuli rossi è inferiore di 5 volte circa rispetto a quella del siero. Non utilizzare campioni emolizzati.

In livelli fino a 28 mg/dL di bilirubina non sono state riscontrate interferenze significative.

A livelli fino a 1500 mg/dL di trigliceridi non sono state riscontrate interferenze significative (usando Intralipid*).

*Intralipid è un marchio registrato di Pharmacia AB, Clayton, NC.

Young fornisce un elenco di medicinali e altre sostanze che interferiscono con le analisi chimiche cliniche.^{8,9}

RIFERIMENTI

- 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 Dati in archivio presso Medica Corporation.
- 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.

Parametri dell'analisi EasyRA (ALT)

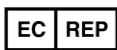
Lunghezza d'onda (nm)	340/405 nm
Tipo di reazione	Enzima (0)
Direzione reagente	Diminuzione
Bianco reagente	No
Bianco campione	No
Primo intervallo max. cambiamento assorb.	0,032
Tempo di reazione	5,6 min.
Intervallo di calibrazione (massimo)	N/D
Stabilità on-board del reagente	44 giorni

Siero/Plasma

Volume del campione (µl)	8,0
Volume del diluente (µl)	32
Volume del reagente (µl)	152
Posizioni decimali (valori predefiniti)	1
Unità (valori predefiniti)	U/L
Fattore di diluizione	1:1 (per estendere l'intervallo di misurazione)
Linearità	da 5,0 a 500 U/L
Assorbività molare	6,22



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



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