

Determinazione quantitativa della GPT (Alanina Transferasi) nel siero o plasma. Metodo cinetico in UV ottimizzato IFCC.

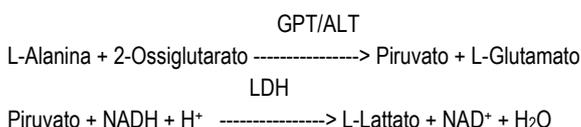
**REF CC1224** R1:3x20 mL + R2: 1x15 mL **REF CC1222** R1:3x40 mL+ R2: 1x30mL

**REF CC1220** R1: 3x80 mL + R2: 1x60 mL

## PRINCIPIO DEL METODO

Metodo UV-Cinetico ottimizzato secondo la IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine).

La GPT/ALAT catalizza la trasformazione del 2-Ossiglutarato ed L-Alanina in L-Glutammato e Piruvato. Successivamente la Lattato-Deidrogenasi (LDH) catalizza la trasformazione del Piruvato formatosi e del NADH in L-Lattato e NAD<sup>+</sup> causando una diminuzione di Assorbanza (Abs) della reazione che è misurata fotometricamente alla lunghezza d'onda di 340 nm. La velocità di diminuzione della Abs è proporzionale all'attività dell'enzima GPT/ALAT nel campione in esame.



## SIGNIFICATO CLINICO

Il gruppo di enzimi chiamati transaminasi esiste nei tessuti di molti organi. L'attività necrotica in questi organi causa il rilascio di quantitativi anomali di enzima nel sangue dove essi vengono misurati. Poiché il tessuto cardiaco è ricco di GOT, i livelli sierici aumentati appaiono nei pazienti dopo infarto miocardico, così come nei pazienti con malattia muscolare, distrofia muscolare e dermatomiosite. Il fegato è particolarmente ricco di GPT, essendo questa misura enzimatica utilizzata principalmente come test per l'epatite infettiva e tossica, sebbene alti livelli di GPT e GOT possano essere riscontrati anche in caso di danno alle cellule del fegato e pancreatite acuta, suggerendo che l'ostruzione dell'albero biliare, del pancreas edematoso e la presenza di malattia epatica associata possono contribuire a livelli elevati di GOT in questi pazienti. Lievi o moderati aumenti delle attività GOT e GPT possono essere osservati dopo assunzione di alcool e dopo somministrazione di vari farmaci, come salicilati, oppiacei e ampicillina.

## COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

### Reagente R1:

Tampone Tris, pH 7,8	100 mmol/L
L-Alanina	500 mmol/L
LDH	≥ 1700 U/L

### Reagente R2:

2-Ossiglutarato	15 mmol/L
NADH	0,18 mmol/L

## PREPARAZIONE REAGENTI E STABILITA'

Reagenti liquidi e pronti all'uso, stabili fino alla data di scadenza riportata, se conservati come riportato in etichetta e si evitano contaminazione, evaporazioni ed esposizione prolungata alla luce diretta.

Non congelare i reagenti.

Scartare il reagente se appaiono segni di deterioramento come presenza di particelle e torbidità oppure mancato recupero dei valori di sieri di controllo certificati oppure se l'Assorbanza del Bianco Reagente a 340 nm è < 1.000 in cuvetta da 1 cm.

Dopo l'apertura dei flaconi, si consiglia di prelevare il volume necessario, di richiudere immediatamente i flaconi e di riportarli in frigo al fine di evitare contaminazione, degradazione da luce diretta ed evaporazione.

Per la procedura Campione Starter, preparare una Soluzione di Lavoro miscelando 4 parti di R1 ed 1 parte di R2 (per esempio 20 mL di R1 + 5 mL di R2). Stabilità: 5 gg a 15-25° C, 30 giorni a 2-8°C.

Per la Procedura Reagente Starter, i reagenti R1 ed R2 sono pronti all'uso e stabili fino alla data di scadenza riportata in etichetta se si evitano contaminazione, degradazione da luce diretta ed evaporazione

## CAMPIONI

Siero, Plasma da eparina o EDTA. Evitare campioni emolizzati o lipemici. Separare il siero dal coagulo rapidamente.

Stabilità nel siero: 8 ore a 20-25° C, 5 giorni a 2-8°C, 3 mesi a -20°C.

Perdita attività entro 3 giorni: < 8% a 2-8° C, < 10% a 15-25° C.

Scartare i campioni contaminati.

## PROCEDURA

Lunghezza d'onda:	340 nm
Temperatura:	37°C
Misura:	contro acqua distillata

### Procedimento come Monoreagente (Campione Starter).

Pipettare come segue:

Soluzione Lavoro	1000 µL
Campione /Calibratore	100 µL

Miscelare, attendere 1 minuto e leggere l'Assorbanza iniziale (Abs) e le Abs dopo 1,2 e 3 minuti esatti.

Calcolare i Δ Abs/minuto ed effettuare la media aritmetica.

### Procedimento come bi-reagente (Reagente Starter).

Pipettare come segue:

Reagente R1	800 µL
Campione /Calibratore	100 µL

Miscelare, attendere 1 minuto, quindi aggiungere:

Reagente R2	200 µL
-------------	--------

Miscelare, attendere 1 minuto e leggere l'Assorbanza iniziale (Abs) e le Abs dopo 1,2 e 3 minuti esatti.

Calcolare i Δ Abs/minuto ed effettuare la media aritmetica

## CALCOLO

Con Fattore di Calcolo (lettura in cuvette di 1 cm di percorso ottico):

$$\text{GPT/ALAT (U/L)} = \text{Media } \Delta \text{ Abs/minuto} \times 1746$$

Con Calibratore Multiparametrico:

Ricavare il Fattore di Calcolo dall'uso di un Calibratore Multiparametrico:

Concentrazione Calibratore

Fattore Calcolo= -----

Media Δ Abs/minuto Calibratore

$$\text{GPT/ALAT (U/L)} = \text{Media } \Delta \text{ Abs/minuto} \times \text{Fattore Calcolo}$$

Fattore di conversione: U/L x 0,0167 = µKat/L = µmol/sec/L

**CALIBRAZIONE**

I risultati dipendono dalla accuratezza della calibrazione, dal corretto settaggio del test sullo strumento, dal giusto rapporto volumetrico reagente/campione e dalla corretta temperatura di analisi.

Usare il Calibratore **MTD Diagnostics:**

**Chemistry Multicalibrator - REF CAL1010 (10 x 3 mL).**

**CONTROLLO QUALITA'**

Sieri di controllo normali e patologici ad attività enzimatica nota, devono essere analizzati regolarmente in ogni seduta analitica.

Utilizzare il materiale di controllo di qualità di MTD Diagnostics:

**Chemistry Control N - REF CNN1010** 10x5 mL (Livello 1)

**Chemistry Control P - REF CNP1020** 10x5 mL (Livello 2)

**VALORI DI RIFERIMENTO BIBLIOGRAFICI**

Donne Adulte < 31 U/L

Uomini Adulti < 41 U/L

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire un range di valori attesi in base alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare il proprio intervallo di riferimento. A fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati insieme alla storia medica del paziente, all'esame clinico e ad altri risultati.

**PRESTAZIONI****PRECISIONE:**

Livello basso: Campioni= 20; Media = 45; D.S. = 0,92; CV = 2,04%

Livello alto: Campioni= 20; Media = 183; D.S. = 2,16; CV = 1,18%

**ACCURATEZZA (CORRELAZIONE):** Una comparazione tra questo metodo (x) ed un metodo certificato del commercio (y) ha dato la seguente correlazione:

$$y=1,03x + 0,0998 \text{ con } r=0,997$$

**SENSIBILITA':** 2 U/L

**LINEARITA':** 2 – 280 U/L

**INTERFERENZA E SPECIFICITA'**

Nessuna interferenza osservata con presenza di nei campioni di Acido Ascorbico fino a 30 mg/dL, Bilirubina fino a 20 mg/dL, Emoglobina fino a 500 mg/dL e Trigliceridi fino a 1000 mg/dL.

**NOTE**

1. Questo metodo può essere utilizzato con diversi strumenti. Qualsiasi applicazione a uno strumento deve essere validata per dimostrare che i risultati soddisfano le caratteristiche di prestazione del metodo. Si consiglia di validare periodicamente lo strumento. Contattare il proprio distributore per qualsiasi domanda sul metodo di applicazione.

2. La diagnosi clinica non dovrebbe essere fatta sui risultati di un singolo risultato del test, ma dovrebbe integrare sia i dati clinici che quelli di laboratorio

**PRECAUZIONI**

Il prodotto non contiene altre sostanze o miscele pericolose secondo la regolamentazione CE n° 1272/2008 (CLP) ovvero le loro concentrazioni sono tali da non essere considerate persistenti, bioaccumulanti o tossiche (PBT). Pertanto, esso non è soggetto alla etichettatura speciale prevista

dalla suddetta regolamentazione. Il prodotto è etichettato secondo la direttiva per la marcatura CE (98/79/CE). Sodio Azide inferiore a 0.1%.

Tuttavia, in osservanza alle normali norme di prudenza che ognuno deve osservare allorchè maneggi qualunque sostanza chimica o reagente di laboratorio, in caso di contatto dei Reagenti con l'operatore, occorre applicare i seguenti interventi di primo soccorso:

S26 (P305 – P351 – P338): In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare il medico.

S28 (P302 – P352): In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente ed abbondantemente.

S36/37/39 (P280): Usare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi/la faccia.

S46 (P301 – P310): In caso d'ingestione consultare immediatamente il medico e mostrargli il contenitore o l'etichetta. Se la vittima è cosciente, lavare la bocca con acqua.

S56 (P273): Smaltire questo materiale e relativi contenitori in un punto di raccolta autorizzato per rifiuti pericolosi o speciali.

S63 (P304 – P340): In caso di incidente per inalazione, allontanare l'infortunato dalla zona contaminata e mantenerlo a riposo.

Tutti i campioni in esame, calibratori e controlli devono essere trattati come materiale potenzialmente infettivo capace di trasmettere HIV ed epatiti

PER OGNI ALTRA INDICAZIONE, RICHIEDERE LA SCHEDA DI SICUREZZA AL PRODUTTORE.

**SIMBOLOGIA**

	Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79 CE)		
	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti temperatura di conservazione
	Consultare istruzioni per l'uso		Dimensione / numero test
<b>REF</b>	Numero di catalogo		Scadenza
<b>LOT</b>	Numero di lotto		Fabbricante

**BIBLIOGRAFIA**

Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 617-721.

Thomas L. Alanine aminotransferase (ALT), Aspartate aminotransferase (AST). In: Thomas L, editor. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 55-65.

Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Féraud G et al. IFCC primary reference procedure for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 5: Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of aspartate aminotransferase. Clin Chem Lab Med 2002;40:725-33.