

Alanine aminotransférase (ALT/GPT) – Liquizyme (4 + 1) E.C.2.6.1.2.

REF : GPT-MK-0520 (5x20ml)
REF : GPT-MK-1010 (10x10ml)

Utilisation

Le réactif liquizyme ALT de NS BIOTEC est conçu pour la détermination diagnostique et quantitative in-vitro de l'ALT dans le sérum humain sur des systèmes automatisés et manuels.

Rappel

L'enzyme alanine aminotransférase ALT est largement présente en grande concentration dans le foie mais aussi, dans une mesure moins grande, dans les reins, le cœur, les muscles squelettiques, le pancréas et les poumons. Une élévation de l'ALT dans le sérum a lieu lors d'hépatites, de cirrhoses, de jaunisses par obstructions, de carcinomes du foie et en cas d'abus chronique d'alcool. Pour les patients atteints d'infarctus du myocarde non compliqué, l'ALT augmente uniquement un peu. Bien que, AST et ALT augmentent tous les deux lors de maladie portant atteinte à l'intégrité des cellules du foie, ALT est l'enzyme la plus spécifique au foie. De plus, l'élévation d'ALT persiste plus longtemps qu'une élévation de l'activité d'AST.

Méthode

Méthode cinétique en accord avec la Fédération Internationale de chimie clinique (IFCC).

Principe de la méthode

Ci-dessous expliquée la succession de réactions prenant place au cours de cette méthode :

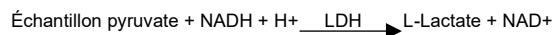
1. Le groupe amine présent dans l'échantillon est enzymatiquement transféré par ALT de l'alanine à l'atome de carbone présent dans 2-oxoglutarate pour former du pyruvate et L-glutamate.



2. Pyruvate est réduit en lactate par LDH, présent dans le réactif, simultanément à l'oxydation de NADH en nicotinamide adénine dinucléotide (NAD). La réaction est suivie en mesurant le taux de baisse de l'absorbance à 340 nm causée par l'oxydation de NADH.



3. L'échantillon de pyruvate endogène est rapidement et complètement réduit par LDH lors d'une période initiale d'incubation de sorte qu'il n'interfère pas avec les résultats du test.



Réactifs

Réactif 1 (R1 Tampon/Enzyme)

Tampon Tris (pH 7.4) 100 mmol/L
L-Alanine 800 mmol/L
LDH ≥ 2000 U/L
Azoture de sodium 8 mmol/L

Réactif 2 (R2 Coenzyme)

NADH ≥ 0.18 mmol/L
2-oxoglutarate 18 mmol/L
Azoture de sodium 8 mmol/L

Pour plus d'informations, se référer à la fiche de données de sécurité du réactif Alanine aminotransférase.

Précautions et mise en garde

Ne pas ingérer ou inhaler. En cas de contact avec les yeux ou la peau, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau et du savon. En cas de blessures sévères, consulter un médecin immédiatement.

Les réactifs (R1) et (R2) contiennent de l'azoture de sodium qui peut réagir avec le cuivre ou le plomb des canalisations.

Ou préparer la solution de travail selon le nombre de tests requis en mélangeant 4 volumes du réactif 1 (R1) à 1 volume de réactif 2 (R2), ex : 400 μ L R1 + 100 μ L R2.

Stockage du réactif et stabilité

Tous les réactifs sont stables, quand stockés à 2-8°C, jusqu'à la date d'expiration mentionnée sur l'emballage. Une fois ouvert, le réactif est stable durant 2 mois à la température spécifiée.

La solution de travail est stable durant 4 semaines à 2-8°C ou 2 jours à 15-25°C.

Détérioration

Ne pas utiliser le réactif liquizyme ALT s'il apparaît turbide ou si l'absorbance de la solution de travail est inférieure à 1.0 à 340 nm. L'incapacité à obtenir des résultats de contrôles dans l'intervalle recommandé peut être un signe de la détérioration du réactif.

Collecte et conservation des échantillons

Utiliser du sérum ou plasma non-hémolysé. L'héparine et EDTA sont les seuls anticoagulants acceptables ; éviter tout autres anticoagulants. La demi-vie biologique de ALT dans le sérum est de 47 heures.

Stabilité : 3 jours à 15-25°C, 7 jours à 4-8°C ou -20°C.

Paramètres du système

Longueur d'onde	340 nm (334-365 nm)
Cuvette	1cm
Type de réaction	Cinétique
Sens de la réaction	Décroissant
Échantillon : Réactif rapport	1 : 10
ex : Volume du réactif	1 ml
Volume échantillon	100 μ L
Température	37°C ou 30°C
Temps d'équilibrage	60 secondes
Temps de lecture	1 à 3 minutes
Réglage du zéro	Contre l'air
Limite du blanc	Min 1.00 AU Max 2.5 AU
Sensibilité	5 U/L
Linéarité	400 U/L

Procédure

	Macro	Semi-Micro
Solution de travail	1.0 ml	500 μ L
Échantillon	100 μ L	50 μ L

Mélanger, mesurer une absorbance initiale après 60 secondes et simultanément commencer le chronomètre. Mesurer de nouveau à 1, 2 et 3 minutes. Déterminer le changement d'absorbance moyen par minute ($\Delta A/\text{min}$).

Calcul

Pour calculer l'activité de ALT/GPT, utiliser la formule suivante :

$$U/I = 1780 \times \Delta A \text{ 334 nm/min}$$

$$U/I = 1746 \times \Delta A \text{ 340 nm/min}$$

$$U/I = 3235 \times \Delta A \text{ 365 nm/min}$$

Contrôle de qualité

Des contrôles de sérum commerciaux dont les concentrations sont connus, aussi bien normal qu'anormal, devraient être réalisés avec chaque test.

Performance de la méthode

Précision

Intra-série (répétabilité)

	Niveau 1	Niveau 2
n	20	20
Moyenne (U/L)	24.6	105.9

SD	0.93	0.94
CV %	3.78	0.89

Inter-série (reproductibilité)

	Niveau 1	Niveau 2
n	20	20
Moyenne (U/L)	25.2	106
SD	1.1	1.05
CV %	3.9	0.95

Méthode de comparaison

Une comparaison entre le réactif ALT (4+1) de NS BIOTEC et un réactif commercial, suivant la même méthodologie, a été réalisée sur 20 sérums humains. Une corrélation de 0.983 a été obtenue.

Sensibilité

Lorsqu'il est utilisé tel que recommandé, le seuil de détection est de 5.0 U/L.

Linéarité

La réaction est linéaire jusqu'à une concentration d'ALT de 400 U/L. Les échantillons présentant une concentration plus élevée doivent être dilués : 1V+5V en utilisant une solution physiologique saline. Répéter l'essai et multiplier le résultat par 6.

Interférences :

Hémoglobine

Une contamination aux érythrocytes élève les résultats puisque l'activité d'ALT dans les érythrocytes est 3 à 5 fois plus élevées que lorsque comparé avec du sérum normal.

Ictère

Pas d'interférences significative.

Lipémie

Les échantillons lipidiques peuvent causer de fausses baisses des résultats. Une dilution de l'échantillon est recommandée.

Anticoagulants

Le citrate et le fluorure inhibent l'activité de l'enzyme.

Médicaments

Le dobésilate de calcium et doxycycline HCl provoquent une baisse artificielle des résultats d'ALT.

Valeurs recommandées

37°C	Femmes	jusqu'à 31 U/l	jusqu'à 0.52 µKat/L
	Hommes	jusqu'à 41 U/l	jusqu'à 0.68 µKat/L
30°C	Femmes	jusqu'à 22 U/l	jusqu'à 0.37 µKat/L
	Hommes	jusqu'à 29 U/l	jusqu'à 0.48 µKat/L

Le facteur de conversion pour la température est 1.32 (25 → 30°C) et 1.85 (25 → 37°C).

NS BIOTEC n'interprète pas les résultats de procédures de laboratoire clinique ; l'interprétation des résultats est considérée la responsabilité d'un personnel médical qualifié. Toutes les informations ayant une importance clinique sont appuyées sur des références scientifiques.

Intervalle analytique

5-400 U/L.

Traitement des déchets

Ce produit est fabriqué pour être utilisé dans des laboratoires professionnels. Consulter la réglementation locale pour la procédure de traitement des déchets.

S56 : Éliminer ce matériel et son emballage dans un contenant de collecte de déchets dangereux ou spéciaux.

S57 : Utiliser un contenant adapté afin d'éviter la contamination de l'environnement.

S61 : Éviter toute élimination dans la nature ; se référer aux fiches de sécurité.

Références

1. Breuer J, report on the symposium "drug effects in clinical chemistry

methods". Eur J Clin Chem Clin Biochem. 1996;34:385-386.

2. ECCLS. Determination of the catalytic activity concentration in serum on L- alanine aminotransferase (EC 2.6.1.2, ALAT) Clin chem. 1989;20:204-211.

3. IFCC expert panel on enzymes part 3. J Clin Chem Clin Biochem 1986;24:481-95 .

4. Henry RJ, et al. Am J Clin Path 1960 :34:381

5. Sherwin JE. Liver function. In: kaplan LA, PESCE AJ, eds. Clinical chemistry, theory, analysis, and correlation. St louis: mosby; 1984:420-438.

6. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests. Third edition. 1990 :3:6-12.

7. Zilva JF, pannall PR : plasma enzymes in diagnosis in clinical chemistry in diagnosis and treatment lloyd luke london 1979: chap 17 :338.



NS BIOTEC

MEDICAL EQUIPMENT

66 Port Said St., Camp Shezar

Alexandria – Egypt

Tele: 002 03 592 0902

Fax : 002 03 592 0908

Website: www.nsbiotec.com

E- mail : info@nsbiotec.com



CMC Medical Devices & Drugs S.L.

C/ Horacio Lengo, 18.

29006. Málaga, Spain