

# GPT / ALT

Metodo cinetico UV - IFCC

R1: 4 x 40 ml + R2: 4 x 10 ml  
R1: 3 x 100 ml + R2: 1 x 75 ml

CL39-200  
CL39-375

## USO PREVISTO

Kit per la determinazione quantitativa delle GPT/ALT nel siero e nel plasma secondo le raccomandazioni IFCC.

## SIGNIFICATO CLINICO

L'Alanina amino transferasi (ALT) si trova principalmente nelle cellule del fegato e del rene. La sua funzione è quella di convertire l'alanina in piruvato, un composto chimico importante nella produzione di energia a livello cellulare. Negli individui sani i livelli di ALT sono bassi e aumentano quando il fegato è danneggiato, pertanto l'esame è molto utile per la diagnosi precoce delle malattie epatiche.

## PRINCIPIO

L'alanina in presenza di  $\alpha$ -chetoglutarato viene trasformato in piruvato e glutammato dalla GPT/ALT presente nel campione. Il piruvato in presenza di NADH e di lattato deidrogenasi viene trasformato in lattato e NAD.

Il consumo di NADH nell'unità di tempo, misurato a 340 nm, è proporzionale alla concentrazione di GPT/ALT nel campione.

## CAMPIONE

Siero (preferibilmente).

Plasma (sconsigliato).

Non usare campioni emolizzati.

STABILITÀ: la GPT è stabile 3 giorni a 2-8°C, 1 mese a -20°C.

## REAGENTI

Solo per uso diagnostico in vitro.

Reagenti liquidi pronti all'uso.

Contenuto delle confezioni:	CL39-200	CL39-375
<b>REAGENT 1</b> Tampone Tris (pH 7.8) 110 mmol/L, L-alanina 550 mmol/L, LDH $\geq$ 1320 U/L, $\alpha$ -chetoglutarato 16,5 mmol/L, sodio azide 30 mmol/L.	4x 40 ml	3 x 100 ml
<b>REAGENT 2</b> Tampone Tris (pH 10.2) 10 mmol/L, NADH 2,6 mmol/L, sodio azide 30 mmol/L.	4 x 10 ml	1 x 75 ml

STABILITÀ: i reagenti, se conservati a 2-8°C e protetti dalla luce, sono stabili fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Una volta aperti i reagenti sono stabili 2 mesi a 2-8°C se sono state evitate contaminazioni. Conservare i flaconi chiusi quando non in uso. Non utilizzare i reagenti in caso di torbidità.

## MATERIALI NECESSARIO NON FORNITI

Normale strumentazione di laboratorio. Spettrofotometro UV/VIS munito di termostatazione. Micropipette automatiche. Cuvette in vetro ottico o monouso in polistirolo ottico. Soluzione fisiologica.

## PREPARAZIONE DEL REAGENTE DI LAVORO

(solo per procedimento monoreagente)

Miscelare 4 volumi di Reagent 1 con 1 volume di Reagent 2.

Stabilità: 5 giorni a 20-25°C oppure 4 settimane a 2-8°C se conservato ben chiuso ed al riparo dalla luce.

## PROCEDIMENTO MANUALE

Metodo:	cinetica in decremento
Lunghezza d'onda:	340 nm
Cammino ottico:	1 cm
Temperatura:	30 o 37°C
Tempo di lettura:	3 minuti
Letture:	contro aria o acqua distillata
Ratio Campione/Reagenti (bireagente):	1/8/2
Ratio Campione/Reagente (monoreagente):	1/10

## Procedimento bireagente

Portare i reagenti test alla temperatura prescelta per l'analisi.

Pipettare in cuvetta:

Campione	125 $\mu$ l
Reagent 1	1,0 ml

Miscelare ed incubare alla temperatura prescelta per 1 minuto. Aggiungere:

Reagent 2	250 $\mu$ l
-----------	-------------

Miscelare e incubare alla temperatura prescelta per 1 minuto. Leggere l'assorbanza iniziale, ripetere la lettura ad intervalli costanti di 1 minuto per 3 minuti. Calcolare il valore medio delle variazioni di assorbanza per minuto ( $\Delta A/min$ ).

## Procedimento monoreagente

Portare il reagente di lavoro necessario per l'esecuzione del test alla temperatura prescelta per l'analisi. Pipettare in cuvetta:

Campione	100 $\mu$ l
Reagente di lavoro	1,0 ml

Miscelare e incubare alla temperatura prescelta per 1 minuto. Leggere l'assorbanza iniziale, ripetere la lettura ad intervalli costanti di 1 minuto per 3 minuti. Calcolare il valore medio delle variazioni di assorbanza per minuto ( $\Delta A/min$ ).

I volumi di reazione (per entrambi i metodi) possono essere variati proporzionalmente senza alcuna modifica nel calcolo.

## CALCOLO

Calcolare l'attività enzimatica nel campione analizzato moltiplicando il  $\Delta A/min$  trovato per il fattore come di seguito indicato.

Attività in U/l:  $\Delta A/min \times 1746$

Attività in  $\mu$ kat/l:  $U/l \times 0.0167$

## INTERVALLO DI RIFERIMENTO

	30°C	37°C
Uomini	fino a 25 U/L	fino a 40 U/L
Donne	fino a 22 U/L	fino a 35 U/L

E' comunque opportuno che ciascun laboratorio provveda a definire il proprio intervallo di riferimento

## CONTROLLO QUALITÀ - CALIBRAZIONE

Si raccomanda un programma di Controllo Qualità a tutti i laboratori di Chimica Clinica. Allo scopo sono disponibili a richiesta sieri di controllo a base umana:

**PRE-NORM** sieri con valori nell'ambito della normalità

**PRE-PATH** sieri con valori patologici.

Se il metodo lo richiede è disponibile un calibratore multiparametrico a base umana. Contattare FAR per ulteriori informazioni.

## PRESTAZIONI DEL METODO

### Sensibilità

la sensibilità del metodo è di 3 U/L.

### Linearità

Il metodo è lineare fino a 300 U/L.

Per valori superiori diluire i campioni 1:10 con soluzione fisiologica e moltiplicare il risultato ottenuto per 10.

### Precisione

nella serie (n=10)	Media [U/L]	SD	CV %
Campione 1	26,8	230	3,6
Campione 2	0,97	2,96	1,28

tra le serie N=20)	Media [U/L]	SD	CV %
Campione 1	26,8	215	3,6
Campione 2	0,97	7,05	3,28

### Interferenze

I lipidi non interferiscono fino a 2000 mg/dl di trigliceridi.

La bilirubina non interferisce fino ad una concentrazione di 40 mg/dl.

L'acido ascorbico non interferisce fino ad una concentrazione di 30 mg/dl.

La presenza di emolisi nel campione dà origine a risultati falsi positivi.

### Correlazione con metodo di riferimento

La correlazione del metodo (Y) con un metodo di riferimento (X) ha evidenziato la seguente equazione:

$$Y = 1,0356X + 0,4362 \quad r = 0,9975$$

## SMALTIMENTO

P501: smaltire il prodotto in conformità della legislazione nazionale.

## PRECAUZIONI



REAGENTE 1 ATTENZIONE: **H315** Provoca irritazione cutanee.

## BIBLIOGRAFIA

1. Recommendation on I.F.C.C. methods for measurement of catalytic concentrations of enzymes, Clin Chem, 23:5 (1977)
2. Wroblewsky F., Ladue J.S., Proc. Soc. Exper. Biol and Med, 91:569 (1965)
3. NCCLS Document, "Procedures for the collection of arterial blood specimens", Approved Standard, 3rd Ed. (1999).
4. EU-Dir 1999/11 Commission Directive of 8 March 1999 adapting to technical progress the principles of good laboratory practice as specified in Council Directive 87/18/EEC

## PRODUTTORE

FAR

Via Fermi, 12 - 37026 Pescantina - VERONA - ITALY

tel +39 045 6700870

sito web <http://www.farddiag.com>

e-mail: [order@farddiag.com](mailto:order@farddiag.com)

e-mail: [farddiag@farddiag.com](mailto:farddiag@farddiag.com)

## LEGENDA SIMBOLI

	dispositivo medico diagnostico in vitro
	numero di lotto
	numero di catalogo
	limite di temperatura
	usare entro la data
	attenzione
	consultare le istruzioni d'uso