

ACB-ALAT/GPT UV, cinétique selon IFCC

REF	GPT4004	REF	GPT4008
R1	6 x 12 ml	R1	4 x 32 ml
R2	1 x 19 ml	R2	2 x 17 ml

Utilisation

Réactif pour la détermination quantitative de l'alanine aminotransférase dans le sérum et le plasma humains.

Rappel

L'enzyme alanine aminotransférase (ALAT) est présente à des concentrations élevées dans le foie et moins élevées dans les reins, le cœur, les muscles squelettiques, le pancréas et les poumons. Le taux sérique d'ALAT se voit considérablement élevé dans le cas des hépatites, de cirrhose, d'ictère obstructif, de carcinome hépatique et d'alcoolisme chronique. L'ALAT n'est que légèrement élevée chez les patients présentant un IDM non compliqué.

Bien que l'aspartate aminotransférase (ASAT) et l'ALAT sériques soient tous les deux élevés dans les maladies hépatiques, l'ALAT reste l'enzyme la plus spécifique du foie. De plus, l'augmentation de l'activité d'ALAT persiste plus longtemps que celle d'ASAT.

Principe de la méthode

L'alanine aminotransférase (ALAT/GPT) catalyse la réaction suivante :



Par la réaction couplée de la lactate déshydrogénase (LDH) et de la coenzyme relative (NADH), le pyruvate endogène est réduit rapidement et complètement pendant l'incubation, de sorte qu'il n'interfère pas avec la réaction.



Le suivi de la réaction se fait en mesurant la vitesse de diminution de l'absorbance à 340 nm due à l'oxydation du NADH en NAD⁺.

Composition

R1 : Tampon

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

R2 : Coenzyme

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

Précautions et mise en garde

Ne pas ingérer ou inhaler, éviter tout contact avec les yeux, la peau et les muqueuses.

Les réactifs contiennent de l'azoture de sodium qui peut réagir avec les canalisations en cuivre ou en plomb.

Symboles sur l'emballage du produit

	Pour diagnostic in vitro		Températures limites
	Numéro de lot		Date d'expiration
	Référence		Fabriqué par
	ATTENTION. Lire les instructions d'utilisation		(Xi) - Irritant

Préparation, conservation et stabilité

Préparer une solution de travail en fonction du nombre de tests à réaliser en mélangeant 4 volumes de R1 avec 1 volume de R2.

Les réactifs sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée sur les étiquettes lorsqu'ils sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C.

Après ouverture, les réactifs sont stables pendant 2 mois à la température spécifiée.

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

Détérioration

Ne pas utiliser le réactif s'il est trouble ou si l'absorbance de la solution de travail est inférieure à 1.0 AU à 340 nm.

Prélèvement, conservation et stabilité des échantillons

Utiliser du sérum ou du plasma non hémolysés. Les seuls anticoagulants acceptables sont l'héparine et l'EDTA.

Les échantillons sont stables pendant 3 jours à 15-25°C ; 7 jours à 4-8°C ou à -20°C.

Procédure

Paramètres du système

Longueur d'onde	340 nm (334 - 365)
Cuvette	1 cm
Type de la réaction	Cinétique
Sens de la réaction	Décroissant
Ratio Echantillon/Réactif	1 : 10
Température	30 °C ou 37 °C
Point zéro (Ajustement)	Contre l'air

1. Apporter les réactifs à température ambiante.
2. Pipeter dans des tubes à essai :

	Macro	Semi-Micro
Solution de travail	1 ml	500 µl
Echantillon	100 µl	50 µl

3. Mélanger, lire l'absorbance initiale après 60 secondes. Démarrer le chronomètre simultanément. Relire après 1, 2 et 3 minutes. Déterminer la variation d'absorbance moyenne par minute (ΔA/min).

Calcul

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

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

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

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

Contrôle de qualité

Il est recommandé de tester conjointement des sérums de contrôle normal et pathologique à chaque série.

ACB-Normotrol **REF** GLUN001 **REF** GLUN003

ACB-Pathotrol **REF** GLUP001 **REF** GLUP003

Performance de la méthode

Précision

N (20)	Répétabilité intra-série		
	Moyenne (U/L)	SD	CV %
Niveau 1	24.6	0.93	3.78
Niveau 2	105.9	0.94	0.89

N (20)	Reproductibilité inter-série		
	Moyenne (U/L)	SD	CV %
Niveau 1	25.2	1.1	3.9
Niveau 2	106	1.05	0.95

Sensibilité

Lorsqu'il est utilisé tel que recommandé, le seuil de détection du réactif est de 5 U/L.

Linéarité

La réaction est linéaire jusqu'à une concentration en ALAT de 400 U/L. Les échantillons présentant une concentration plus élevée doivent être dilués à 1/6 en utilisant une solution physiologique saline.

Répéter l'essai, (résultat x6).

Intervalle analytique

5 - 400 U/L.

Interférences

Hémolyse

Un taux élevé d'ALAT peut être obtenu dans les échantillons hémolytiques, du à la présence d'ALAT dans les érythrocytes.

Ictère

Aucune interférence significative.

Lipémie

Les échantillons lipémiques peuvent provoquer une diminution d'absorbance. Une dilution est recommandée.

Anticoagulants

Le citrate et le fluorure inhibent l'activité enzymatique.

Médicaments

Le dobésilate de calcium et la doxycycline entraînent des taux faussement bas d'ALAT.

Valeurs de référence

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 de la température est de 1.32 (25-30°C) et de 1.85 (25-37°C).

Traitement des déchets

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

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

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

S61 : Eviter l'élimination dans la nature ; se référer aux instructions de fiche de sécurité.

Bibliographie

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 lioydluke london 1979:chap 17 : 338.