



IVD

 Per uso diagnostico in vitro
 REF 10122 - 10x20 ml
 10123 - 6x50 ml

Kit per la determinazione dell'alanina-aminotransferasi nel siero o plasma - Metodo UV cinetico ottimizzato IFCC*

* International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine

PRINCIPIO

L'enzima alanina-aminotransferasi (ALT) (o transaminasi glutammico-piruvico/GPT) catalizza la reazione tra l'acido alfachetoglutarico e lalanina, con formazione di acido L-glutammico e acido piruvico. Quest'ultimo, in presenza di lattato deidrogenasi (LDH), reagisce con il NADH formando acido lattico e NAD⁺. La variazione di estinzione è proporzionale all'attività dell'ALT. Nel reattivo è contenuto LDH con lo scopo di convertire il piruvato endogeno in lattato durante la preincubazione.

REATTIVI - Concentrazione iniziale

R1 Tampone TRIS pH 7.5 80.0 mmol/l; L-alanina 500.0 mmol/l;
alfa-chetoglutarato 15.0 mmol/l; conservanti e stabilizzanti non reattivi
R2 NADH 0.22 mmol/l; LDH ≥ 2000 U/l

CAMPIONI

- Siero o plasma anticoagulato con eparina o EDTA.

Note

- Non utilizzare campioni emolizzati poiché l'emolisi può causare risultati sovrastimati.
- L'attività dell'ALT tende a decrescere (< 10%) dopo 3 giorni a 2-8°C.

VALORI DI RIFERIMENTO

Siero - plasma [U/l]	37°C
Donne	<36
Uomini	<43

I valori di riferimento sono da considerarsi indicativi in quanto ogni laboratorio dovrebbe ricercare quelli della popolazione su cui opera. I risultati del test dovrebbero essere interpretati unitamente alle informazioni derivanti dalle valutazioni cliniche del paziente.

PREPARAZIONE DEI REATTIVI

Sciogliere il contenuto del flacone **R2** con:

conf. 20 ml:	20 ml del flacone R1
conf. 50 ml:	50 ml del flacone R1

Togliere i reattivi dal frigo solo il tempo necessario per il loro utilizzo e richiederli subito dopo.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

- Conservare il kit a 2-8°C. Non congelare i reattivi.
- Stabilità del reattivo ricostituito: 21 giorni a 2-8°C.

NOTE

- Il kit con la presente metodica deve essere utilizzato in manuale. Per l'utilizzo in automatico consultare le applicazioni specifiche.
- Valutare attentamente i risultati se l'estinzione del reattivo di lavoro è < 1.000 a 340 nm.
- Evitare di esporre i reattivi alla luce diretta, contaminazione ed evaporazione.
- I volumi indicati nel procedimento possono essere variati proporzionalmente.
- In caso di reclamo o di richiesta del controllo di qualità del presente kit, indicare il numero di lotto riportato sulla confezione o, in alternativa, il numero di lotto dei singoli componenti.

MATERIALI AUSILIARI

Materiali necessari non contenuti nel kit: soluzioni diluenti, vetreria e monouso, sistemi di dosaggio e misurazione, calibratori per la taratura degli strumenti.

CONTROLLO DI QUALITÀ

È necessario eseguire i controlli ad ogni utilizzo del kit e verificare che i valori ottenuti siano inclusi nell'intervallo di riferimento riportato nelle istruzioni d'uso.

Sieri consigliati:

REF 20350 Precise Norm

REF 20360 Precise Path

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

Il prodotto non è classificato come sostanza pericolosa (DLg. N.285 art.28 Legge n.128 del 1998). La concentrazione totale dei componenti è inferiore ai limiti riportati dalle Direttive 67/548/CEE e 88/379/CEE e successive modifiche sulla classificazione, imballaggio ed etichettatura delle sostanze pericolose.

È consigliabile tuttavia maneggiare il prodotto con cautela secondo le norme di buona pratica di laboratorio.

Attenzione: i reattivi contengono Sodio Azide (0.095%) come conservante. Evitare l'ingestione ed il contatto con pelle, occhi e mucose.

SMALTIMENTO RIFIUTI

Il prodotto deve essere smaltito secondo le locali normative in materia di gestione dei rifiuti.

PROCEDIMENTO

Lunghezza d'onda	$\lambda: 340 \text{ nm}$
Temperatura di lavoro	37°C
Cammino ottico	1 cm
Tipo di reazione	cinetica (in decremento)

Portare i reattivi a 15-25°C prima del loro utilizzo.

	BIANCO	CAMPIONE
REATTIVO DI LAVORO	1000 µl	1000 µl
ACQUA DISTILLATA	100 µl	---
CAMPIONE	---	100 µl

Agitare, poi incubare 1 min. a 37°C. Leggere l'estinzione del campione (EC) contro acqua distillata al tempo 0 e dopo 1, 2, 3 minuti. Calcolare la variazione media di estinzione per minuto ($\Delta E/\text{min}$).

CALCOLO

$$\text{ALT [U/l]} = \Delta E/\text{min} \times 1746$$

PRESTAZIONI DEL REATTIVO
Interferenze

La bilirubina non interferisce con il test sino alla concentrazione di 40 mg/dl. I trigliceridi non interferiscono sino alla concentrazione di 2000 mg/dl. L'emoglobina non interferisce sino alla concentrazione di 400 mg/dl. L'acido ascorbico non interferisce sino alla concentrazione di 30 mg/dl.

Linearità

La reazione è lineare sino alla concentrazione di 350 U/l. Campioni superiori devono essere diluiti con soluzione fisiologica. Moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

Precisione "intra-Assay" (NELLA SERIE)

Determinata su 30 replicati per ciascun controllo (L-N-H) (Low-Normal-High).

Risultati ottenuti:

MEDIA	(U/l)	L = 25.93	N = 53.82	H = 118.53
D.S.		0.64	1.12	2.61
C.V.%		2.46	2.07	2.20

Precisione "inter-Assay" (FRA LE SERIE)

Determinata su 15 replicati per ciascun controllo (L-N-H) per 3 giorni. Risultati ottenuti:

MEDIA	(U/l)	L = 28.20	N = 57.18	H = 114.02
D.S.		0.71	1.28	2.57
C.V.%		2.52	2.24	2.25

Sensibilità analitica

Soglia di sensibilità espressa dal metodo: 4 U/l.

Correlazione

Un metodo equivalente preso a riferimento, correlato su 21 campioni con il reattivo in esame, ha dato un fattore di correlazione $r = 0.90$.

BIBLIOGRAFIA

Wroblewski F, La Due JS.: Proc. Sec. Exp. Biol. and Med., 34, 381 (1956). Expert Panel on enzyme of the IFCC, Clin. Chim. Acta, 70, PM, (1976). Bergmeyer HU, Horder M, Rej R.: International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) Scientific Committee. J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 24, 481 (1986). Lorentz K, Röhle G, Siekmann L.: DG Klinische Chemie Mitteilungen, 26, 190 (1995). Kaplan LA, Pesce AJ: "Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1996).

SIMBOLOGIA

 Consultare istruzioni per l'uso

 Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79/CE)

 Limiti temperatura di conservazione

 Dispositivo medico-diagnostico in vitro

 Fabbricante

IVD
REFFor in vitro medical device
10122 - 10x20 ml
10123 - 6x50 ml

Kit for measurement of alanine-aminotransferase in serum or plasma - Kinetic UV optimized method IFCC*

* International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine

PRINCIPLE

The enzyme alanine-aminotransferase (ALT) (or glutamic-pyruvic transaminase/GPT) catalyzes reaction between alpha-ketoglutarate and L-alanine giving glutamate and pyruvic acid. In presence of lactate dehydrogenase (LDH), pyruvic acid reacts with NADH giving lactic acid and NAD⁺. The absorbance variation is proportional to the ALT activity. In the reagent is contained LDH to convert the endogenous pyruvate into lactate during the preincubation.

REAGENTS

R1 TRIS buffer pH 7.5 80.0 mmol/l; L-alanine 500.0 mmol/l;
alpha-ketoglutarate 15.0 mmol/l; preservatives and no reactive stabilizers.
R2 NADH 0.22 mmol/l; LDH ≥ 2000 U/l.

SAMPLE

- Serum-heparinized plasma or EDTA plasma.

Note

- Do not use samples with haemolysis because this one could cause wrongly overestimated results.
- The ALT activity tends to decrease (< 10%) after 3 days at 2-8°C.

REFERENCE VALUES

Serum - plasma [U/l]	37°C
Women	<36
Men	<46

References values are considered indicatives since each laboratory should establish references ranges for its own patient's population. The analytical results should be evaluated with other information coming from patient's clinical story.

PREPARATION OF REAGENTS

Dissolve the content of R2 vial with:

vial 20 ml: 20 ml of R1 solution
vial 50 ml: 50 ml of R1 solution

Keep out the reagents from refrigerator only for the use and recap them immediately.

STORAGE AND STABILITY

- Store the kit at 2-8°C. Do not freeze the reagents.
- Reconstituted reagent stability: 21 days at 2-8°C.

NOTE

- The kit, according to this method, must be used in manual procedures. About automatic using follow specific applications.
- Evaluate carefully the results if working reagent absorbance is < 1.000 at 340 nm.
- Avoid direct light, contamination and evaporation.
- The volumes in the procedure can be changed proportionally.
- In case of complaint or quality control request, refer to the lot number on the package or the lot number on the singles vials.

AUXILIARY EQUIPMENT

Materials not included in the kit: diluent solutions, laboratory glassware, disposable tips, photometers and calibrators.

QUALITY CONTROLS

It's necessary, every time the kit is used, to make the quality controls and to check that values obtained are within the acceptance range provided in the insert.

Suggested serum:

REF 20350 Precise Norm

REF 20360 Precise Path

PRECAUTION IN USE

The product is not classified as dangerous (DLg. N. 285 art. 28 l. n. 128/1998). The total concentration of components is lower than the limits reported by 67/548 and 88/379 CE Regulations (and following modifications) about classification, packaging and labelling of dangerous substances.

However the reagent should be handled with caution, according to good laboratory practice.

Caution: the reagents contain Sodium Azide (0.095%) as preservative. Avoid swallowing and contacting with skin, eyes and mucous membranes.

WASTE MANAGEMENT

Please refer to the local legal requirements.

PROCEDURE

Wavelength	$\lambda: 340 \text{ nm}$
Working temperature	37°C
Optical path	1 cm
Reaction	kinetic (decreasing)

Bring the reagents at 15-25°C before using them.

WORKING REAGENT	BLANK	SAMPLE
DISTILLED WATER	1000 µl.....	1000 µl
SAMPLE	100 µl	---
	---	100 µl

Mix, then incubate for 1' a 37°C. Measure the initial absorbance and at 1 minute intervals thereafter for 3 minutes. Calculate the difference between consecutive absorbances, and the average absorbance difference per minute ($\Delta E/\text{min}$)..

CALCULATION

$$\text{ALT [U/l]} = \Delta E/\text{min} \times 1746$$

ANALYTICAL PERFORMANCES

Interferences

Bilirubin does not interfere up to concentration of 40 mg/dl.
Triglycerides do not interfere up to concentration of 2000 mg/dl.
Hemoglobin does not interfere up to concentration of 400 mg/dl.
Ascorbate acid does not interfere up to concentration of 30 mg/dl.

Linearity

Reaction is linear up to a concentration of 350 U/l. Samples with values exceeding this range must be diluted with saline solution. Multiply, then, the result for diluting factor.

"Intra-Assay" precision (within-Run)

Determined on 30 samples for each control (L-N-H) (Low-Normal-High).

Results:

MEAN	(U/l)	L = 25.93	N = 53.82	H = 118.53
S.D.		0.64	1.12	2.61
C.V.%		2.46	2.07	2.20

"Inter-Assay" precision (between-run)

Determined on 15 samples for each control (L-N-H) for 3 days.

Results:

MEAN	(U/l)	L = 28.20	N = 57.18	H = 114.02
S.D.		0.71	1.28	2.57
C.V.%		2.52	2.24	2.25

Analytical sensitivity

The test sensitivity in terms of detection limit is 4 U/l.

Correlation

A study based comparing this method with a similar method on 21 samples has given a correlating factor $r = 0.90$.

BIBLIOGRAPHY

Wroblewski F, La Due JS.: Proc. Sec. Exp. Biol. and Med., 34, 381 (1956).
Expert Panel on enzyme of the IFCC, Clin. Chim. Acta, 70, PM, (1976).
Bergmeyer HU, Horder M, Rej R.: International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) Scientific Committee. J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 24, 481 (1986).
Lorentz K, Röhle G, Siekmann L.: DG Klinische Chemie Mitteilungen, 26, 190 (1995).
Kaplan LA, Pesce AJ: "Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1996).

SYMBOLS



Read instruction for use



CE mark (requirement of 98/79 regulation)



Storing temperature limits



In vitro medical device



Producer