

ALT/GPT BR opt.

IFFC

Metoda enzimatica UV

CINETIC

Doar pentru utilizarea *in vitro*

CONTINUT

1105000	ALT/GPT BR opt.	2 x 50 mL
1105010	ALT/GPT BR opt.	3 x 100 mL

REF

PRINCIPIUL

Alamin aminotransferaza (ALT/GPT) catalizeaza transferul grupului amino de la anilina in oxoglutarat cu formare de glutamat si piruvat. Ultimul este redus la lactate de catre lactoza dehidrogenaza (LDH) in prezenta de nicotinamida adenina dinucleotide redusa NADH.

Reactia este monitorizata cinetic la 340 nm de catre rata scazuta de absorbata rezultand din oxidarea NADH-ului NAD⁺, proportional cu activitatea ALT-ului din proba.



Metoda urmeaza formula propusa optimizata de IFCC¹.

CONSTITUENTI SI COMPOZITIE

R1 **ALT substrat.** Solutie tampon de TRIS 150 mmol/L pH 7.3, L-alanina 750 mmol/L, dehidrogenaza lactate > 1350 U/L

R2 **ALT coenzime.** NADH 1.3 mmol/L, 2-oxoglutarat 75 mmol/L. Biocide.

CONSERVARE SI STABILITATE

Se pastreaza la temperaturi de 2-8°C.

Reactivii sunt stabili pana la data de valabilitate scrisa pe eticheta.

PREPARAREA REACTIVULUI

Reactiv de lucru. Amestecati 4 mL de R1 cu 1 mL de R2. Este stabil timp de 4 saptamani la o temperatura de 2-8°C. Feriti de lumina .

Indepartati reactivul in cazul in care prezinta o absorbanta mai mica de 1.200 la 340 nm fata de apa distilata sau in cazul in care nu reuseste sa atinga din nou valorile declarate de serum de control.

PROBE

Serul si EDTA-ul sau plasma heparinizata sunt liberi de hemoliza.

ALT-ul este stabil in ser sau plasma timp de 24 de ore la temperatura camerei sau timp de 1 saptamana la o temperatura de 2-8°C.

- Probele colectate de la pacientii aflati in hemodializa, deficita severa de vitamina B sau alte patologii ce au legatura cu cele de mai sus, duc la o deprecire a valorilor ALT-ului
- Ca rezultat al nivelului crescut de ALT in eritrocite hemolizate probele sunt potrivite pentru testare.
- Probele lipemice (trigliceridele cu un nivel mai mare de 2g/L) si probele icterice (bilirubina>20 mg/dL) nu intervin.
- Alte medicamente sau substante pot afecta valorile de ALT.

MATERIALE DE LUCRU

- Fotometru sau spectrofotometru cu celula de citire termostatata la o temperatura de 30/37°C, capabil sa citeasca la 340 nm
- Ceas de laborator
- Cuvete cu drum optic de 1 cm
- Pipete pentru masurarea reactivului si a probei

METODA DE LUCRU

1. Preincubati reactivul de lucru, probele si controalele la temperatura camerei
2. Setati fotometrul la absorbanta 0 cu ajutorul apei distillate
3. Pipetati intr-o cuveta:

Temperatura de reactie	37°C	30°C
Reactivul de lucru	1.0 mL	1.0 mL
Proba	50 µL	100 µL

4. Amestecati usor prin inversiune. Inserati cuveta in locas si dati drumul ceasului de laborator.
5. Incubati timp de 1 minut si notati citirea absorbantei initiale.
6. Repetati citirea absorbantei exact dupa 1, 2, 3 minute.
7. Calculati diferențele existente intre absorbante.
8. Calculati media rezultatelor obtinute pentru a obtine modificarile medii ale absorbantei pe minut ($\Delta A/min$).

METODA DE CALCUL

$$U/L = \Delta A/min \times 3333 \quad (37^\circ C)$$

$$U/L = \Delta A/min \times 1746 \quad (30^\circ C)$$

Probele cu $\Delta A/min$ crescand de 0.160 la 340 nm ar trebui sa fie diluata cu 1: 10 solutie salina si analizata din nou. Inmultiti rezultatele cu 10.

In cazul in care rezultatele trebuie sa fie exprimate in unitati SI se aplica:

$$U/L \times 0.01667 = \mu\text{kat/L}$$

VALORI DE REFERINTA

Ser, plasma

Adulti	37°C	Pana la 40 U/L (0.67 µkat/L)
	30°C	Pana la 25 U/L (0.42 µkat/L)

Nivelele aproape de doua ori mai mari decat nivelul la adulti se vad in cazul nou-nascutilor si copiilor; aceasta scadere pana la nivelul existent in cazul adultilor se produce dupa varsta de 6 luni.

Se recomanda ca fiecare laborator sa-si stabileasca propile norme de referinta.

CONTROL DE CALITATE

Pentru a asigura calitatea de control adecvata (QC), fiecare rulare ar trebui sa includa un set de controale (normale sau abnormale) cu valorile de analiza tratate ca necunoscute.

1980005 MULTISER UMAN NORMAL
NIVEL DE ALT SCAZUT. ANALIZA

REF

1985005 MULTISER UMAN ANORMAL
NIVEL DE ALT CRESCUT. ANALIZA.

REF

SEMNIFICATIA MEDICALA

Grupul de enzime numite transaminaze se afla in alcatuirea multor organe. Activitatea necronica in aceste organe duce la eliberarea unor cantitati anormale de enzime in sange de unde sunt masurate.

Din moment ce tesutul inimii este bogat in AST nivele crescute de ser apar in cazul pacientilor aflati dupa un infarct miocardic, la fel de bine si in cazul pacientilor cu boli musculare, distrofie musculara si dermatomiositoza.

Ficatul este foarte bogat in ALT, iar masurarea acestei enzime este folosita in mod special in testarea hepatitei toxice si infectioase, cu toate aceste nivele mari de AST si ALT se gasesc de asemenea si in cazul unor afectiuni celulare ale ficatului si in cazul pancreatitei acute, sugerand ca obstructia cailor biliare de catre endemul pancreatic si de prezenta bolii hepatice asociate pot sa contribuie la cresterea nivelului de ALT la acesti pacienti.

Cresterile moderate sau usoare ale activitatii ALT-ului si AST-ului pot fii observate dupa consumarea de alcool si dupa administrarea de medicamente variate, cum ar fi salicilatul, opiatul sau ampicilina.

PERFORMANTELE ANALIZEI

- **Linearitate.** Pana la 500 U/L
- **Precizie**

U/L	In timpul analizei		
Mean	75	165	540
SD	1.25	1.89	5.6
CV%	1,67	1,15	1,04
N	10	10	10

Replicati: 10 pentru fiecare nivel

Instrument: CECIL CE 2021

- **Sensibilitate.** Folosind acest reactiv si metoda un $\Delta A/min$ de 0.00 citire la 340 nm este echivalent cu 2.3 U/L de activitate GPT

- **Corelare.** Acest amestec (y) a fost comparat cu o metoda comerciala similara (x). Rezultatele au fost:

$$N = 24 \quad r = 0.998 \quad y = 0.96 - 1.32$$

REFERINTE

1. Bergmeyer, H.V., Harder, M., Rej, R. Approved recommendati (1985) on IFCC methods for the measurement of cataly concentration of enzymes. Part 2. IFCC method for asparta aminotransferase, J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 24 : 497 (1986)
2. Young, D.S. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 4th Edition. AACC Press (1995).
3. Tietz, N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd Edition. W.B. Saunders Co. Philadelphia, PA. (1995).

