Cholestech LDX®

ALT (GPT)

Cassetta per test di alanina aminotrasferasi

***ESENZIONE CLIA*—Questo test è esente dalla normativa CLIA (Emendamento miglioramento laboratori clinici) del 1988. Se il laboratorio modifica le istruzioni del sistema di test, il test deve essere considerato altamente complesso e deve assoggettarsi a tutti i requisiti CLIA.**

IVD Solo per uso professionale diagnostico *in vitro.*

N. di catalogo 11-772

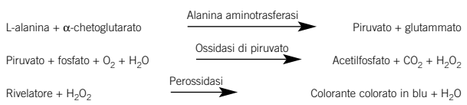
Indicazioni per l'uso:
Il test per alanina aminotrasferasi di Cholectech LDX serve alla determinazione quantitativa *in vitro* dell'alanina aminotrasferasi (ALT) nel sangue in toto usando l'analizzatore Cholestech LDX.

Introduzione
L'alanina aminotrasferasi è un enzima che catalizza la conversione di alanina a piruvato e si trova nei tessuti muscolari, in quelli del fegato e in altri. ALT è presente in modo particolare nel fegato. I livelli di ALT riflettono alterazioni funzionali del fegato e pertanto rappresentano un prezioso strumento per misurare danni al fegato. I danni al fegato possono essere il risultato di uso cronico di bevande alcoliche o droghe, o d'infezione. Esistono numerose medicine liporiducenti disponibili per trattare l'iperlipemia. L'aumento continuo dell'ALT sierica (tre volte superiore al valore massimo considerato normale) in circa 1% dei pazienti curati con terapia liporiducente è un effetto collaterale di tale trattamento. I pazienti in cura con trattamento liporiducente dovrebbero essere sottoposti a test ALT prima (base di riferimento) e poco dopo l'inizio della terapia, e periodicamente in seguito, per accertare il livelli di ALT.

Ora l'alanina aminotrasferasi può essere misurata con una sola goccia di sangue usando una tecnologia rapida e accurata.

Fondamenti del test
Il sistema Cholectech LDX misura l'ALT con una combinazione di metodologia enzimatica e tecnologia a fase solida. I campioni utilizzati per il test possono essere di sangue in toto prelevato con puntura al dito (in tubi capillari rivestiti con eparina di litio) o con puntura venosa. Il campione viene applicato a una cassetta ALT di Cholestech LDX. La cassetta viene quindi inserita nell'analizzatore Cholestech LDX dove un sistema esclusivo separa sulla cassetta il plasma dalle cellule del sangue. Il plasma fluisce a entrambi i lati della cassetta e viene trasferito sul cuscinetto di reazione ALT.

L'analizzatore Cholestech LDX misura l'analina aminotrasferasi con un metodo enzimatico basato sul metodo formulato da Katsuyama et al.[1,2] L'analina aminotrasferasi catalizza il trasferimento di aminogruppi L-alanina a α-chetoglutarato, producendo piruvato e glutammato. In presenza di ossigeno, l'ossidasi di piruvato ossida il piruvato in acetilfosfato e perossido d'idrogeno. In una reazione catalizzata da perossidasi di rafano, la perossidasi reagisce con un colorante rivelatore formarndo colore blu a un tasso proporzionale alla concentrazione di ALT nel campione. Il colore risultante della reazione viene misurato tramite fotometria di riflettanza.



Su ogni cassetta la striscia magnetica marrone contiene le informazioni di calibrazione richieste dall'analizzatore Cholestech LDX per convertire le letture di riflettanza in U/L di concentrazione ALT a 37 °C / 99 °F.

Cassetta anilina aminotrasferasi
Tutte le cassette ALT contengono un minimo di:

	ALT
L-alanina, µg	91,9
Acido α-chetoglutarico, µg	6,4
Fosfato monobasico di sodio, µg	9,6
Ossidasi di piruvato (Aerococcus viridans), U	2,4
Perossidasi (rafano), U	3,6
2-(3,5 di-tert-butile-4-idrossifenil)-4,5-bis(4-dimetilaminofenil)imidazolo, µg	6,1

Ingredienti non reattivi: sostanze tampone e stabilizzanti.

Conservazione e stabilità cassette
Le cassette **devono** essere conservate nella confezione sigillata.

Le cassette possono essere usate sino alla data stampigliata sulla confezione purché vengano conservate in frigorifero (2–8 °C / 36–46 °F). Oppure le cassette possono essere conservate a temperature ambiente (al disotto di 30 °C / 86 °F) per una durata massima di 30 giorni.

Una volta conservate a temperatura ambiente, le cassette non devono più essere rimesse in frigorifero.

- Non usare le cassette oltre la scadenza stampata sulla confezione.
- Non usare cassette che sono state conservate a temperatura ambiente per più di 30 giorni.
- Non usare le cassette più di una volta.

Trattamento delle cassette
Prima di aprire la loro confezione, le cassette devono rimanere a temperature ambiente per 10 minuti. Usare le cassette immediatamente dopo averne aperta la confezione.

Tipo di campione
Nota:
Il sistema Cholestech LDX è esente CLIA solo per campioni non processati di sangue in toto prelevato tramite puntura al dito o puntura venosa. L'esecuzione di test con siero o plasma usando il Cholestech LDX è classificata come moderatamente complessa e dovrà conformarsi alla normativa corrispondente. Per un sommario di tali norme vedere il manuale d'uso per il sistema Cholestech LDX.

Requisiti dei campioni
- Volume del campione: 35 µL di sangue in toto.

Sangue in toto da puntura al dito:
- Prelevare il campione dalla puntura al dito con il tubo capillare Cholestech LDX. (Vedere sotto la procedura per puntura al dito.)
- Mettere il sangue nella cassetta *immediatamente* dopo il prelievo.
- Il sangue deve fluire liberamente dalla puntura al dito. Stringere il dito in modo eccessivo può produrre risultati inesatti.

Sangue in toto da puntura venosa:
• Prelevare il sangue in un tubo a punta verde (anticoagulante eparina di litio).

NOTA: non usare tubi trattati con altri additivi perché si potrebbero ottenere risultati inesatti.

- Il sangue in toto va utilizzato entro 30 minuti. Dopo averlo mescolato, il campione del sangue può essere prelevato direttamente dal tubo.
- Usare punte e pipette MiniPet™ da 35 µL o una micropipetta che sia stata tarata per erogare 35 µL di sangue in toto nella cassetta.
- Prima di eseguire i test, i campioni devono essere a temperatura ambiente.
- Mescolare tutti i campioni capovolgendoli delicatamente 7–8 volte prima del test.
- Non usare i tubi capillari Cholestech LDX per dosare sangue venoso in toto.

PRECAUZIONE: tutti i campioni, recipienti, tubi capillari e altri articoli che sono venuti a contatto del sangue devono essere trattati come capaci di trasmettere malattie infettive e devono essere eliminati scartandoli in un contenitore per rifiuti che rappresentano un pericolo biologico.

Calibrazione
Non è richiesta nessuna calibrazione da parte dell'utente. Le informazioni di test sono codificate sulla striscia marrone della cassetta. La striscia marrone viene letta dal Cholestech LDX ogni volta che si esegue un test con la cassetta.

Il controllo ottico (optics check) dell'analizzatore deve essere eseguito tutti i giorni in cui si sottopongono a test i campioni dei pazienti. Per istruzioni, vedere il manuale d'uso del sistema Cholestech LDX.

PROCEDURA DI TEST

Materiali forniti:
Cassette ALT
Altri articoli richiesti:

- Analizzatore Cholestech LDX e alimentatore
- Tamponi imbevuti d'alcol e garza per pulire il punto di puntura
- Lancette per il prelievo capillare di sangue.
- Tubi capillari Cholestech LDX (con anticoagulante eparina di litio)
- Stantuffi capillari Cholestech LDX
- Guanti
- Contenitori di scarti che rappresentano un pericolo biologico
- Sostanza di controllo di qualità
- Pipetta e punta MiniPet da 35 µL o dispositivo micropipetta capace di erogare 35 µL, da usare con campioni di sangue venoso e con la sostanza di controllo di qualità
- Tubi di aspirazione, aghi, portatubi e tubi campione per campioni da prelevare tramite puntura venosa.

Esecuzione del test
1. Togliere la confezione della cassetta dal frigorifero.
2. Lasciare la confezione della cassetta a temperatura ambiente per la durata di 10 minuti.
3. Togliere la cassetta dal suo sacchetto. Tenere la cassetta solo dai suoi lati corti. Non toccare la barra nera o la striscia marrone. Posare la cassetta su una superficie piana.

NOTA: quando si lavora con campioni di sangue e di sostanza di controllo si devono indossare guanti.

4. Premere **RUN** (Esegui). Dopo pochi secondi lo schermo visualizzerà:

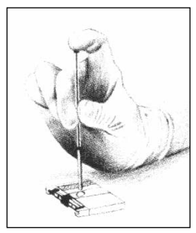
```
Autotest in
corso
```

```
Autotest OK
```

5. Il cassetto della cassetta si aprirà. Lo schermo visualizzerà:

```
Caricare la cass
e premere RUN.
```

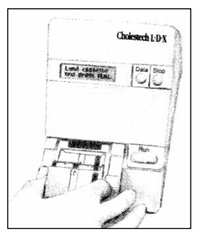
6. Mettere il campione nel pozzetto della cassetta. Per i campioni prelevati da puntura al dito, usare un tubo capillare Cholestech LDX. Per gli altri campioni usare una pipetta MiniPet da 35 µL.



NOTA: i campioni prelevati con puntura al dito vanno applicati *immediatamente* dopo il prelievo per evitare che il sangue coaguli.

7. Dopo avere applicato il campione, mantenere la cassetta orizzontale. Inserire *immediatamente* la cassetta nel cassetto dell'analizzatore. La barra nera deve essere rivolta verso l'analizzatore. La striscia marrone deve essere sulla destra.
8. Premere **RUN** (Esegui). Il cassetto si chiuderà. Durante il test lo schermo visualizzerà:

```
ALT
In corso****
```



9. Scartare in un contenitore per rifiuti che rappresentano un pericolo biologico tutto ciò che è venuto a contatto del sangue o della sostanza di controllo.
10. Quando il test è terminato, l'analizzatore emette un segnale acustico. Lo schermo visualizzerà:

```
ALT=###
Warn
```

11. Quando i risultati sono fuori intervallo di misurazione, lo schermo visualizzerà:

```
ALT < 10 o
ALT > 400
```

12. Se si è verificato un problema con il test, lo schermo visualizzerà un messaggio. Se ciò si verifica, vedere la sezione di *Individuazione e soluzione problemi e manutenzione* nel manuale d'uso del sistema Cholestech LDX.

Per qualsiasi domanda sull'uso del sistema Cholestech LDX, chiamare l'assistenza tecnica.

13. Quando il cassetto si apre, togliere la cassetta. Scartare in un contenitore per rifiuti che rappresentano un pericolo biologico. Lasciare il cassetto vuoto quando l'analizzatore non è in uso.
14. Prendere nota dei risultati.
15. Per eseguire il test di un'altra cassetta, premere **RUN** (Esegui). Lo schermo visualizzerà:

```
Caricare la cass
e premere RUN.
```

16. Ripetere la procedura di test.
17. In caso contrario, dopo 4 minuti viene emesso un segnale acustico e lo schermo visualizza:

```
Sistema in temp
premere RUN
```

Il cassetto si chiude se non si preme il pulsante **RUN** (Esegui) entro 15 secondi. Quindi lo schermo si svuota.

Procedura per la puntura al dito
1. Prima di prelevare il campione, il paziente dovrebbe rimanere seduto e rilassato per 5 minuti.
2. Inserire uno stantuffo capillare nell'estremità del tubo capillare Cholestech LDX contrassegnata in rosso. Mettere da parte.
3. Scegliere un punto che sia sul lato **di una delle dita di mezzo** della mano destra o sinistra. Le dita e le mani devono essere calde al tocco. Per riscaldare la mano si può:
   a. Lavare la mano del paziente con acqua calda, o…
   b. Applicare alla mano per alcuni minuti un impacco caldo (non caldissimo), o…
   c. Massaggiare delicatamente il dito più volte dalla base alla punta, per far circolare il sangue verso la punta del dito.
4. Pulire il punto con un tampone imbevuto di alcol Asciugare completamente **prima di pungere il dito.**
5. Pungere il dito con movimento sicuro usando una lancetta.
6. Stringere delicatamente il dito sino a ottenere una grossa goccia di sangue. Pulire questa prima goccia di sangue perché potrebbe contenere fluidi del tessuto epidermico.
7. Stringere il dito delicatamente una seconda volta tenendolo rivolto verso il basso, finché non si formi un'altra grossa goccia di sangue. **Non mungere il dito.** La puntura dovrebbe permettere la fuoriuscita libera del sangue.
8. Tenere il tubo capillare orizzontale prendendolo dall'estremità con lo stantuffo. Toccare con l'estremità del tubo la goccia di sangue senza toccare la pelle. Il tubo si riempirà per azione capillare sino al segno nero. **Non prelevare bolle d'aria.** Massaggiare di nuovo il dito dalla base alla punta se si rende necessario fare un altro prelievo.

NOTA: per prelevare un buon campione capillare è necessario che la mano sia calda e che il sangue fuoriesca senza difficoltà dal punto di puntura. Riempire il tubo capillare in meno di 10 secondi.

Uso della pipetta MiniPet
Usare questa procedura per applicare alla cassetta campioni di sangue venoso o di sostanze di controllo. Si può usare qualsiasi pipetta che possa erogare 35 µL.

1. Collegare in modo sicuro la punta della pipetta all'estremità della pipetta MiniPet da 35 µL.
2. Per riempire la pipetta, spingere lo stantuffo fin quando possibile. Porre la punta della pipetta nel campione e rilasciare lentamente lo stantuffo. Non permettere che venga aspirata aria dalla punta.
3. Mettere il campione nel pozzetto del campione della cassetta premendo di nuovo sullo stantuffo. Togliere la punta della pipetta dal pozzetto del campione prima di rilasciare nuovamente lo stantuffo.
4. Togliere la punta della pipetta e scartarla in un contenitore per rifiuti che rappresentano un pericolo biologico.

IMPORTANTE: se si rilascia lo stantuffo prima che la punta della pipetta sia fuori dal pozzetto del campione, si aspirerà il campione appena distribuito.

IMPORTANTE: dopo avere applicato il campione, tenere sempre la cassetta in posizione orizzontale.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Il controllo di qualità dovrebbe essere eseguito in modo regolare per accertare che il sistema produca risultati accurati. Consigliamo la procedura seguente per eseguire il controllo di qualità del sistema Cholestech LDX.

Scelta delle sostanze
È preferibile usare un controllo alto e uno basso. I controlli consigliati da Cholestech funzionano bene con il sistema Cholestech LDX. Se si usano controlli diversi, occorrerà impostarne l'intervallo per il sistema Cholestech LDX.

Trattamento
- Seguire le istruzioni fornite con le sostanze di controllo.
- Prima di usare, controllare la scadenza. Non usare se scaduto.
- Per la procedura, vedere "Esecuzione del test" di cui sopra.

Controllo di qualità esterno
I controlli esterni devono essere effettuati anche per provare che i reagenti e la procedura di analisi eseguono in modo corretto.

I controlli liquidi ALT livello 1 e livello 2 sono disponibili presso Cholestech. I controlli vanno usati:

- Su ogni nuova partita di cassette ricevuta (anche se le cassette fanno parte di un lotto già ricevuto in precedenza).
- Su ogni nuovo lotto di cassette.
- Ogni volta che sia richiesto dalle procedure di controllo di qualità standard del laboratorio.
- Nei casi in cui il Cholestech LDX sia usato in condizioni di esenzione CLIA, o nei casi in cui la normativa locale richieda prove più frequenti con le sostanze di controllo di qualità, il controllo di qualità dovrà essere eseguito in conformità dei regolamenti applicabili.

Una buona pratica di laboratorio suggerisce di usare i controlli esterni ogni volta che il direttore del laboratorio abbia dubbi sull'integrità del sistema di test o sulla tecnica usata dall'operatore (per esempio, i reagenti potrebbero essere stati conservati o maneggiati in un modo che ne degrada le prestazioni ovvero l'operatore potrebbe non avere eseguito il particolare test nelle settimane più recenti).

Se i controlli non producono i risultati attesi, ripetere il test o mettersi in contatto con l'assistenza tecnica prima di sottoporre a test i campioni dei pazienti.

Prima di sottoporre a test i campioni dei pazienti, i risultati del controllo di qualità devono rientrare nell'intervallo accettabile. Se non vi rientrano, vedere il manuale d'uso del sistema Cholestech LDX.

RISULTATI

I risultati del test ALT appariranno sullo schermo quando il test è finito.

LIMITAZIONI

- L'intervallo di misurazione di ALT è 10–400 U/L a 37 °C / 99 °F. I risultati fuori intervallo vengono visualizzati come <10 U/L o >400 U/L.
- I campioni con valori di ALT fuori intervallo di misurazione dovranno essere inviati al laboratorio per il test.
- Le prestazioni del sistema Cholestech LDX non sono state sottoposte a prova con campioni di pazienti neonati o pediatrici.
- Si deve evitare l'emolisi, distruzione dei globuli rossi, perché questa aumenta il livello di ALT e produce risultati inesatti.

Alcune sostanze possono produrre risultati falsi con i test enzimatici. Le sostanze elencate sotto sono state sottoposte a prova d'interferenza con il test ALT. L'interferenza si è dimostrata inferiore al 10% ai livelli indicati sotto.

Concentrazione della sostanza (mg/dL)

Emoglobina	75	Gemfibrosile	15
L-dopa	0,2	Bilirubina	5
Acido ascorbico	1	Probucolo	32,5
Urea	500	Acido nicotinico	10
Fruttosio	30	Clofibrato	80
Acido urico	15	Lovastatin	4
Creatinina	30	Dipirone	10
Glutatione	1	Metotressato	450
Cimetidina	5	Nitrofurantoina	1
Ossitetraciclina	4	Acido gentisico	0,5
Lattosio	100	Metildopa	0,2
Cisteina	10	Sulfometossizolo	16
Fluvastatin	4	Pravastatin	0,8
Simvastatin	4	Lattato	100
Trigliceridi	450	Ditaurobilirubina	5
Glucosio	1200	Acido piruvico	0,2

- Ematocriti tra il 30% e il 50% non influiscono sui risultati.

VALORI PREVISTI

Alanina aminotrasferasi:
Intervallo di riferimento a 37 °C / 99 °F — 10–40 U/L
I valori dei soggetti maschili sono leggermente più alti di quelli dei soggetti femminili.[3]

Caratteristiche di prestazione
Alanina aminotrasferasi:
Precisione: lo studio è stato condotto secondo il protocollo EP5-A di NCCLS (Comitato nazionale per gli standard di laboratorio clinico), Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guidelines (1998) (Direttive approvate per la valutazione della precisione delle prestazioni di dispositivi per le analisi chimiche di laboratorio, 1998).[3]

	Sostanza di controllo disponibile in commercio Livello 1	Sostanza di controllo disponibile in commercio Livello 2	Insieme di siero congelato
$\bar{X}$ (U/L) =	31	58	169
Coefficiente di variazione in esecuzione (%) =	3,2%	3,1%	3,4%
Coefficiente di variazione totale (%) =	5,4%	4,6%	6,5%

	Precisione in esecuzione per sangue in toto
$\bar{X}$ (U/L) =	55
Deviazione tipo (U/L) =	2,3
Coefficiente di variazione (%) =	4,2%

Accuratezza (confronto dei metodi):
I risultati ottenuti con la cassetta ALT sono stati confrontati con quelli ottenuti con un metodo di riferimento rintracciabile al metodo di riferimento IFCC (Federazione internazionale di chimica clinica e medicina di laboratorio) e con quelli di un analizzatore chimico da tavolo al punto di trattamento del paziente.

Risultati:
X = metodo di riferimento (siero)
Y = analizzatore Cholestech LDX

Tipo di campione, Cholestech LDX	N. di paia	Pendenza	Intersezione con y	Coefficiente di correlazione	Intervallo di valori
Sangue in toto da puntura venosa	53	1,001	–0,3	0,966	10–349
Siero	54	1,007	2,8	0,960	14–391
Puntura al dito	24	1,013	3,5	0,930	15–65

Risultati:
X = analizzatore chimico da tavolo al punto di trattamento del paziente
Y = analizzatore Cholestech LDX

Tipo di campione	N. di paia	Pendenza	Intersezione con y	Coefficiente di correlazione	Intervallo di valori
Sangue in toto da puntura venosa	53	0,916	0,3	0,975	10–349
Siero	52	0,914	0,5	0,971	19–383
Puntura al dito	24	0,921	4,3	0,931	15–65

Prestazione d'esclusione prevista
È stato condotto uno studio di accuratezza tra consumatori con la partecipazione di 60 persone profane (non addestrate) che avevano dichiarato di non possedere nessuna esperienza medica o di laboratorio. Queste persone hanno eseguito un test ALT a testa seguendo le istruzioni fornite nell'inserto del prodotto. I campioni utilizzati nei test erano 60 campioni di sangue in toto che erano o originari o corretti con ALT. Al fine di confrontare i risultati ottenuti da persone addestrate e non, anche 3 professionisti (addestrati) sottoposero a prova 60 campioni (20 campioni per ciascuna persona addestrata). I risultati furono usati con l'analisi statistica di regressione Deming, come descritto sotto.

STUDIO DI ACCURATEZZA ALT TRA CONSUMATORI
(addestrati [asse x] e non addestrati [asse y])

n	Pendenza	Pendenza 95% ambito di	Intersenzione con y confidenza	Intersezione con y 95% ambito di confidenza	r
60	0,976	0,934–1,019	1	–1,4–3,3	0,996

Riferimenti

1. Mosbach K, ed. *Methods in Enzymology.* Vol 137. Academic Press, Inc, Harcourt Brace Jovanovich; 1988.
2. Bergmeyer HU, Horder M, Rej R. Approved Recommendation (1985) on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes, Part 3. IFCC Method for Alanine Aminotransferase. *J Clin Chem Clin Biochem* 1986; 24:481–95.
3. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline.* NCCLS; 1998.

IVD	Dispositivo medico per diagnosi *in vitro*
REF	Numero di catalogo
	Attenzione. Vedere le istruzioni per l'uso
	Monouso
	Non usare se la confezione è danneggiata o aperta
LOT	Numero di lotto
	Scadenza:

CHOLESTECH
3347 Investment Blvd.
Hayward, CA 94545 U.S.A.
U.S. Tel +1 510 732.7200
Fax +1 510 732.7227
www.cholestech.com

Rappresentante autorizzato
AR-MED Ltd
Runnymede Malthouse
Egham TW20 9BD
United Kingdom

Cholestech LDX è un marchio di fabbrica depositato di Cholestech Corporation. MiniPet è un marchio di fabbrica di TriContinent Scientific, Inc.
© 2003 Cholestech Corporation. 402 12083 Rev. A