

Προβλεπόμενη χρήση

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό της ασπαραγικής αμινοτρανσφεράσης (AST) σε ανθρώπινο ορό με τη χρήση των αναλυτών Yumizen C230 και Yumizen C240. **Rx Only.**

Κλινική σημαντικότητα

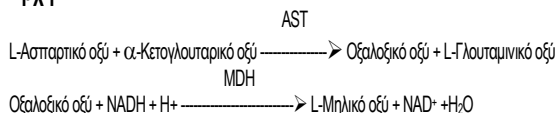
Η AST κτανέμεται ευρέως σε ιστούς, με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις να παρατηρούνται στο ήπαρ, στην καρδιά, στους σκελετικούς μύες και στους νεφρούς. Τυχόν νόσος που σχετίζεται με αυτούς τους ιστούς μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένα επίπεδα της AST στον ορό. Μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου, τα επίπεδα της AST είναι ανεβασμένα και κορυφώνονται μετά από 48 έως 60 ώρες.

Σε ηπατοχολικές νόσους, όπως κίρρωση, μεταστατικό καρκίνωμα και ιογενής ηπατίτιδα, μπορεί να παρατηρηθούν αυξημένα επίπεδα AST. Άλλες διαταραχές που μπορεί να οδηγήσουν σε ανεβασμένο επίπεδο της AST είναι η μυϊκή δυστροφία, η δερματομυοσίτιδα, η οξεία παγκρεατίτιδα και η λοιμώδης μονοπυρήνωση.¹

Ιστορικό μεθόδου

Ο Kamen² ανέπτυξε μια διαδικασία κινητικής δοκιμασίας προσδιορισμού το 1955, η οποία βασίστηκε στη χρήση της μηλικής αφυδρογονάσης και του NADH. Βελτιστοποιημένες διαδικασίες παρουσιάστηκαν από τον Henry³ το 1960 και τους Amador και Wacker⁴ το 1962. Αυτές οι τροποποιήσεις οδήγησαν σε αύξηση της ακρίβειας και μείωση της επίδρασης των παρεμβαλλόμενων ουσιών. Η Επιτροπή Ενζύμων της Σκανδιναβικής Εταιρείας Κλινικής Χημείας και Κλινικής Φυσιολογίας (Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology)⁵ δημοσίευσε το 1974 μια συνιστώμενη μέθοδο που βασίστηκε σε βελτιστοποιημένες τροποποιήσεις. Το 1976, η Ομάδα Εμπειρογνομόνων που ειδικεύεται στα ένζυμα της Διεθνούς Ένωσης Κλινικής Χημείας (IFCC)⁶ πρότεινε την προσθήκη 5-φωσφορικής-πυριδοξάλης στο μείγμα αντίδρασης, για τη διασφάλιση μέγιστης δραστηριότητας. Η IFCC⁷ δημοσίευσε το 1978 μια συνιστώμενη μέθοδο που περιελάμβανε τη 5-φωσφορική-πυριδοξάλη (P-5-P). Η παρούσα μέθοδος βασίζεται στις συστάσεις της IFCC, αλλά δεν περιλαμβάνει P-5-P καθώς τα περισσότερα δείγματα περιέχουν επαρκείς ποσότητες αυτού του συμπαραγόνου για την πλήρη ανάκαμψη της δραστηριότητας της AST.^{8,9,10}

Αρχή



Η ασπαραγική αμινοτρανσφεράση (AST) καταλύει τη μεταφορά της αμινομάδας από το L-ασπαραγικό οξύ στο α-κετογλουταρικό οξύ, για την παραγωγή οξαλοξικού και L-γλουταμινικού οξέος. Το οξαλοξικό οξύ υποβάλλεται σε αναγωγή με ταυτόχρονη οξειδωση του NADH σε NAD στην αντίδραση δείκτη που καταλύεται από τη μηλική αφυδρογονάση (MDH). Το ποσοστό μείωσης της απορρόφησης που προκύπτει στα 340 nm είναι ευθέως ανάλογο με τη δραστηριότητα της AST. Η γαλακτική αφυδρογονάση (LDH) προστίθεται για να αποτραπεί η παρεμβολή από το ενδογενές πυροσταφυλικό οξύ, το οποίο υπάρχει φυσιολογικά στον ορό.

Αντιδραστήρια

Μετά τον συνδυασμό των αντιδραστηρίων R1 και R2, το αντιδραστήριο περιέχει: L-ασπαραγικό οξύ 200 mM, α-κετογλουταρικό οξύ 11 mM, LDH (μικροβιακή) > 1000 U/L, MDH (μικροβιακή) ≥ 800 U/L, NADH > 0,18 mM, ρυθμιστικό διάλυμα, αζίδιο του νατρίου 0,28%, σταθεροποιητές.

Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Τα αντιδραστήρια είναι έτοιμα για χρήση.

Αποθήκευση αντιδραστηρίων

Φυλάσσετε τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία 2 – 8°C. Το αντιδραστήριο παραμένει σταθερό μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα, εφόσον φυλάσσεται σύμφωνα με τις οδηγίες.

Αλλοίωση αντιδραστηρίου

Μην χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο εάν:

1. Η αρχική απορρόφηση στα 340 nm είναι μικρότερη από 0,800.
2. Το αντιδραστήριο δεν πληροί τις αναφερόμενες παραμέτρους απόδοσης.

Προφυλάξεις

1. Αυτό το σετ αντιδραστηρίων προορίζεται μόνο για *in vitro* διαγνωστική χρήση.
2. Το αντιδραστήριο περιέχει αζίδιο του νατρίου (0,28%) ως συντηρητικό. Απαγορεύεται η κατάποση. Μπορεί να αντιδράσει με τον μόλυβδο και τον χαλκό των υδραυλικών σωληνώσεων, σχηματίζοντας εξαιρετικά εκρηκτικά αζίδια μετάλλου. Κατά την απόρριψη, ξεπλύνετε με μεγάλη ποσότητα νερού ώστε να αποτραπεί η συσσώρευση αζιδίου.

Συλλογή και αποθήκευση δειγμάτων ¹¹

1. Συνιστάται η χρήση μη αιμολυμένου ορού. Τα λευκά αιμοσφαίρια περιέχουν AST που μπορεί να δώσει ψευδώς αυξημένα αποτελέσματα.
2. Έχει αναφερθεί ότι η AST σε ορό παραμένει σταθερή για δέκα ημέρες όταν φυλάσσεται σε ψυγείο (2 – 8°C), για δύο εβδομάδες όταν καταψύχεται (-20°C) και για τέσσερις ημέρες όταν φυλάσσεται σε θερμοκρασία δωματίου (15 – 30°C).

Αλληλεπιδράσεις

1. Ορισμένα φάρμακα και ουσίες επηρεάζουν τη δραστηριότητα της AST. Βλ. Young, et al.¹²
2. Οι ασθενείς με σοβαρή ανεπάρκεια βιταμίνης B6 θα μπορούσαν να παρουσιάσουν μειωμένη ανάκαμψη της AST, πιθανώς λόγω έλλειψης φωσφορικής πυριδοξάλης.¹³
3. Η χολερυθρίνη σε τουλάχιστον 18 mg/dL και η αιμοσφαιρίνη σε τουλάχιστον 300 mg/dL καταδείχθηκε ότι έχουν αμελητέα επίδραση σε αυτήν τη διαδικασία.

Παρεχόμενα υλικά

Αντιδραστήρια AST (SGOT) R1 και R2

Απαιτούμενα υλικά που δεν παρέχονται

1. Αναλυτής Yumizen C230/Yumizen C240
2. Εγχειρίδιο λειτουργίας Yumizen C230/Yumizen C240
3. Chemistry control, αριθμός καταλόγου C7592-100

Παράμετροι εξέτασης

Εξέταση:	AST	Χημικό στοιχείο:	Aspartate Aminotransferase
Χημικός αρ.:	203	Πλήρης ονομασία:	AST
Τύπος αντίδρασης:	Κινητική	Κατεύθυνση αντίδρασης:	Αρνητική
Πρωτ. κύμα:	340 nm	Δευτ. κύμα:	405 nm
Δεκαδικό:	0	Τύπος δείγματος/Ορός:	
Χρόνος τυφλού:		Χρόνος αντίδρασης:	3 11
Μονάδα:	U/L	Χρόνος επίτασης:	3

	Όγκος δείγματος	Αναρροφήθηκε	Αραιωτικό	Όγκος αντιδραστηρίου	Αραιωτικό
Πρότυπο,	6	uL	uL	R1: 120	uL
Μείωση,		uL	uL	R2: 30	uL
Αυξημένο,		uL	uL		uL

Εύρος γραμμικότητας (Πρότυπο):	0-500	Όριο γραμμικότητας:	0.3
Εύρος γραμμικότητας (Μειωμένο):		Μείωση υποστρώματος:	5,000
Εύρος γραμμικότητας (Αυξημένο):		Μικτή απορρόφηση τυφλού:	-40000 40000
Απορρόφηση τυφλού R1:	-40000 40000	Σταθερότητα επί του συστήματος:	30 Ημέρες
Απόκριση τυφλού	-40000 40000	Όριο συναγερμού αντιδραστηρίου:	5
Διπλές χημείες:			

Έλεγχος προζώνης:			
Q1:		Q2:	
Q4:		PC:	
		Q3:	ABS:

Χρήση ποσοτικού αποτελέσματος:		
Εύρος:		Επίσημανση:

Μετατόπιση κλίσης:			
	Κλίση	Μετατόπιση	Μονάδα
	1	0	U/L

Προεργασία:		
Προεργασία όγκου δείγματος:	uL	Προεργασία όγκου αντιδραστηρίου:
		uL

Εύρος αναφοράς:			
Τύπος δείγματος:	Φύλο:	Εύρος ηλικίας:	Εύρος αναφοράς:
			Κρίσιμο εύρος: Μονάδα:

Σετ αντιδραστηρίων Pointe AST (SGOT)

Παράμετροι ρύθμισης βαθμονόμησης

Χημ.: AST	Βαθμονομητής	Συγκ.	Θέση	Αρ. παρτίδας
Ρύθμιση βαθμονόμησης	Νερό	0,0	W	
Μαθηματικό μοντέλο: Παράγοντας K				
Συντελεστής: 4200,00	Επαναλήψεις: 2			
Αποδεκτά όρια				
Χρόνος βαθμ.: 24 ώρες				
Διαφ. κλίσης: SD:				
Ευαισθησία: Επαναληψιμότητα:				* Ορίζεται από τον χρήστη
Συντ. προσδ.: Αυτόματη βαθμ.				
	<input type="checkbox"/> Χρόνος βαθμ.			

Περιορισμοί

- Τα δείγματα με τιμές πάνω από 500 IU/L πρέπει να αραιώνονται με φυσιολογικό ορό σε αναλογία 1:1, να υποβάλλονται σε εκ νέου σε δοκιμασία προσδιορισμού και τα αποτελέσματα να πολλαπλασιάζονται επί δύο.
- Οι ασθενείς με σοβαρή ανεπάρκεια βιταμίνης Β6 θα μπορούσαν να παρουσιάσουν μειωμένη ανάκαμψη της AST, πιθανώς λόγω έλλειψης φωσφορικής πυριδοξάλης.¹³

Βαθμονόμηση

Η διαδικασία τυποποιείται μέσω της χλίστομοριακής απορροφητικότητας του NADH που ορίζεται ως 6,22 στα 340 nm υπό τις συνθήκες εξέτασης που περιγράφονται.

Υπολογισμός (Παράδειγμα)

Μία διεθνής μονάδα (IU/L) ορίζεται ως η ποσότητα του ενζύμου που καταλύει τη μεταβολή ενός μικρομορίου (micromole) υποστρώματος ανά λεπτό υπό καθορισμένες συνθήκες.

$$AST \text{ (IU/L)} = \frac{\Delta Abs./Min. \times 1,10 \times 1000}{6,22 \times 0,10 \times 1,0} = \Delta Abs./min. \times 1768$$

Όπου $\Delta Abs./Min.$ = Μέση μεταβολή απορρόφησης ανά λεπτό
 1000 = Μετατροπή IU/mL σε IU/L
 1,10 = Συνολικός όγκος αντίδρασης (mL)
 6,22 = Χλίστομοριακή απορροφητικότητα του NADH
 0,10 = Όγκος δείγματος (mL)
 1,0 = Διαδρομή φωτός σε cm

Παράδειγμα: Εάν η μέση μεταβολή απορρόφησης ανά λεπτό = 0,12, τότε $0,12 \times 1768 = 212 \text{ IU/L}$

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Σε περίπτωση μεταβολής των παραμέτρων εξέτασης, ο παράγοντας πρέπει να επανυπολογιστεί με τη χρήση του παραπάνω τύπου.

Μονάδες SI: Η μετατροπή των μονάδων SI (nkat/L) γίνεται με τον πολλαπλασιασμό των IU/L επί 16,67.

Ποιοτικός έλεγχος

Η εγκυρότητα της αντίδρασης πρέπει να παρακολουθείται με τη χρήση ορών μάρτυρα με γνωστές φυσιολογικές και μη φυσιολογικές τιμές AST (SGOT). Αυτοί οι μάρτυρες πρέπει να υποβάλλονται σε ανάλυση τουλάχιστον σε κάθε βάρδια στην οποία διενεργούνται δοκιμές προσδιορισμού AST (SGOT). Συνιστάται κάθε εργαστήριο να καθορίζει τη δική του συχνότητα προσδιορισμού με μάρτυρες. Πρέπει να καθιερωθούν απαιτήσεις ποιοτικού ελέγχου σε συμμόρφωση με τους τοπικούς, κρατικούς, ή/και ομοσπονδιακούς κανονισμούς ή τις απαιτήσεις πιστοποίησης.

Αναμενόμενες τιμές¹³

8 έως 22 IU/L (30°C)

5 έως 34 IU/L (37°C)

Καθώς οι αναμενόμενες τιμές επηρεάζονται από την ηλικία, το φύλο, τη διατροφή και τη γεωγραφική θέση, συνιστάται ιδιαίτερα κάθε εργαστήριο να καθορίζει το δικό του εύρος τιμών για αυτήν τη διαδικασία.

Επίδοση

- Γραμμικότητα: 0 – 500 IU/L.
- Σύγκριση: Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε μεταξύ των αναλυτών της σειράς Yumizen 200 και παρόμοιου αναλυτή με τη χρήση αυτής της μεθόδου, προέκυψε συντελεστής συσχέτισης 0,996 και εξίσωση παλινδρόμησης $y = 1,069x + 0,6$. (n=50).
- Πιστότητα: Οι μελέτες ακριβείας εκτελέστηκαν με τη χρήση του αναλυτή Yumizen 200 βάσει μιας τροποποίησης των κατευθυντήριων οδηγιών που περιέχονται στο έγγραφο EP5-T2 της NCCLS.¹⁴

Εντός της ανάλυσης

Μέση τιμή	S.D.	C.V.%
39,8	1,7	4,2
182,6	3,2	1,8

Ημερησίως

Μέση τιμή	S.D.	C.V.%
50,3	1,4	2,78
194,5	3,8	1,95

- Ευαισθησία: Η ευαισθησία για αυτό το αντιδραστήριο διερευνήθηκε με μέτρηση της μεταβολής στην απορρόφηση στα 340 nm για ένα δείγμα φυσιολογικού ορού και για δείγματα με γνωστές συγκεντρώσεις. Εκτελέστηκαν τρεις επαναλήψεις. Τα αποτελέσματα αυτής της έρευνας κατέδειξαν ότι, στον αναλυτή που χρησιμοποιήθηκε, το αντιδραστήριο AST (SGOT) παρουσίασε μικρή ή καθόλου απόκλιση του αντιδραστηρίου σε μηδενικό δείγμα. Υπό τις συνθήκες αντίδρασης που περιγράφηκαν, η δραστηριότητα 1 IU/L AST αποδίδει $\Delta Abs./Min.$ της τάξης του 0,0004.

Βιβλιογραφία

- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders co., p 674 (1982).
- Kamen, A., et al, J. Clin. Invest 34:126 (1955).
- Henry, R.J., et al, Am. J. Clin. Path. 34:381 (1960).
- Amador, E., Wacker, W., Clin. Chem. 8:343 (1962).
- The Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology, Scand. J. Clin. Lab. Invest 32:291 (1974).
- Expert Panel of Enzymes of the International Federation of Clinical Chemistry, Clin. Chem. Acta. 70:F19 (1976).
- Expert Panel of Enzymes of the International Federation of Clinical Chemistry, Clin. Chem. 24:720 (1978).
- Jung, K., Bohm, M., Enzyme 23:201 (1978).
- Hafkenschied, J.C.M., Dijt, C.C.M., Clin. Chem. 25:155 (1979).
- Horder, M., Bowers, G.N., Jr., Clin. Chem. 23:551 (1977).
- Henry, R.J., Clinical Chemistry: Principles and Techniques, 2nd Ed., Hagerstown (MD), Harper & Row, P882 (1974).
- Young, D.S., et al, Clin. Chem. 21:1D (1975).
- Kaplan, L.A., Pesce, A.J., Clinical Chemistry, St. Louis, C.V. Mosby, p.911-912 (1989).
- Έγγραφο NCCLS "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

Υπόμνημα συμβόλων

Χρήση έως (EEEE-MM-HH)	Παρτίδα και κωδικός παρτίδας
Αριθμός καταλόγου	Κατασκευαστής
<i>In vitro</i> διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν	Όρια θερμοκρασίας
Συμβουλευθείτε τις οδηγίες χρήσης	Rx Only: Χρήση μόνο με ιατρική συνταγή
Σήμανση CE	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα

12-A7561-100

Παρασκευάζεται από
 HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand
 5449 Research Drive Canton, MI 48188



Παρασκευάζεται από την HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
 5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρώπη:
 Obelis s.a.
 Boulevard Général Wahis 53
 1030 Brussels, ΒΕΛΓΙΟ
 Τηλ.: (32)2.732.59.54 Φαξ: (32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



Αντιδραστήρια πιστοποιημένα ως προς την απόδοση

Τα αντιδραστήρια της Pointe είναι πιστοποιημένα για παρασκευή σύμφωνα με καθορισμένες παραμέτρους. Οποιοδήποτε προϊόν αντιδραστηρίου της Pointe δεν πληροί τις προδιαγραφές έως την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης του θα αποκαθίσταται αμέσως χωρίς χρέωση.

Αναθ. 11/23 P803-A7561-MIN-EL