

Uso previsto

Determinazione quantitativa dell'aspartato aminotransferasi (AST) nel siero umano utilizzando gli analizzatori Yumizen C230 e Yumizen C240. **Solo su prescrizione.**

Interesse clinico

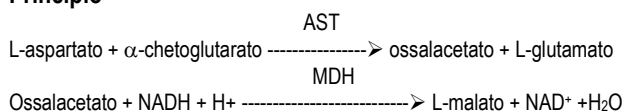
L'enzima AST è diffusamente presente nei tessuti, ma si trova in concentrazioni più elevate nel fegato, nel cuore, nei muscoli scheletrici e nei reni. Le patologie che interessano questi tessuti possono comportare la presenza di elevati livelli di AST nel siero umano. In seguito a un infarto miocardico, ad esempio, i livelli di AST sono elevati e raggiungono un picco 48-60 ore dopo l'evento.

Anche in presenza di patologie epatobiliari, come cirrosi, carcinoma metastatico ed epatite virale, si registra un aumento dei livelli di AST. Altre condizioni che possono portare a elevati livelli di AST sono la distrofia muscolare, la dermatomiosite, la pancreatite acuta e la mononucleosi infettiva.¹

Storia del metodo diagnostico

Nel 1955 Karmen² mise punto una procedura di analisi cinetica basata sull'utilizzo di malato deidrogenasi e NADH. Procedure ottimizzate furono presentate da Henry³ nel 1960 e da Amador e Wacker⁴ nel 1962. Le modifiche apportate da questi ultimi aumentarono l'accuratezza e ridussero gli effetti di sostanze interferenti. Nel 1974, la Commissione Enzimi della Società scandinava di chimica e fisiologia clinica⁵ rese pubblico un metodo raccomandato, basato su modifiche ottimizzate. Nel 1976, il gruppo di esperti di enzimi della Federazione internazionale di chimica clinica (International Federation of Clinical Chemistry, IFCC)⁶ propose di aggiungere del piridossal-5-fosfato alla miscela di reazione, per garantire la massima efficacia. Nel 1978, l'IFCC⁷ rese pubblico un metodo raccomandato che includeva il P-5-P. Il metodo attuale di basa sulle raccomandazioni dell'IFCC ma non contiene P-5-P poiché la maggior parte dei campioni contiene questo cofattore in quantità adeguate a garantire il completo recupero dell'attività dell'AST.^{8,9,10}

Principio



L'aspartato aminotransferasi (AST) catalizza il trasferimento del gruppo amminico dall'L-aspartato all' α -chetoglutarato per produrre ossalacetato e L-glutamato. Nella reazione catalizzata dalla malato-deidrogenasi (MDH), l'ossalacetato viene ridotto mentre il NADH si ossida in NAD. La diminuzione dell'assorbanza a 340nm che ne risulta è direttamente proporzionale all'attività dell'AST. La lattato-deidrogenasi (LDH) viene aggiunta per evitare l'interferenza del piruvato endogeno, normalmente presente nel siero.

Reagenti

Dopo aver combinato R1 e R2, il reagente contiene: acido L-aspartico 200mM, acido α -chetoglutarico 11mM, LDH (microbica) > 1000U/L, MDH (microbica) \geq 800U/L, NADH >0,18mM, tampone, sodio azide 0,28%, stabilizzatori.

Preparazione dei reagenti

I reagenti sono pronti all'uso.

Conservazione dei reagenti

Conservare i reagenti a 2-8°C. Se conservati seguendo le raccomandazioni, i reagenti sono stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta.

Deterioramento dei reagenti

Non utilizzare il reagente se:

- L'assorbanza iniziale a 340nm è inferiore a 0,800.
- Il reagente non rispetta i parametri indicati.

Precauzioni

- Il reagente può essere utilizzato esclusivamente a fini diagnostici *in vitro*.

- Il reagente contiene sodio azide (0,28%) come conservante. Non ingerire. Può reagire con piombo e rame e formare un complesso metallo-azide altamente esplosivo. Pertanto, per smaltire i residui del reagente occorre diluirli con abbondante acqua per evitare che l'azide si depositi.

Raccolta e conservazione dei campioni¹¹

- Si raccomanda di raccogliere siero non emolizzato. I globuli rossi contengono AST e questo può alterare i risultati, facendo registrare valori falsamente elevati.
- L'AST nel siero resta stabile per dieci giorni in frigorifero (2-8°C), per due settimane in congelatore (-20°C) e per quattro giorni a temperatura ambiente (15-30°C).

Interferenze

- Numerosi farmaci e sostanze alterano l'attività dell'AST. Si veda Young, et al.¹²
- I pazienti con grave carenza di vitamina B6 potrebbero avere livelli ridotti di AST, presumibilmente a causa della mancanza di piridossal fosfato.¹³
- È stato riscontrato che concentrazioni di bilirubina di almeno 18 mg/dl e di emoglobina di almeno 300 mg/dl hanno un effetto trascurabile sulla procedura.

Materiali in dotazione

Reagenti AST (SGOT) R1 e R2

Materiali necessari non in dotazione

- Analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240
- Manuale utente per gli analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240
- Controllo chimico, numero di catalogo C7592-100

Parametri di analisi

Analisi:	AST	Sostanza chim.:	Aspartate Aminotransferase
N. chim:	203	Nome etichetta:	AST
Tipo reazione:	cinetica	Direzione reazione:	negativa
Lungh. d'onda prim.:	340 nm	Lungh. d'onda sec.:	405 nm
Decimale:	0	Tipo campione:	siero
T. bianco:		T. reazione:	3 11
Unità:	U/l	T. incubazione:	3

Vol. campione	Aspirato	Diluente	Vol. reagente	Diluente
Standard; 6	ul	ul	R1: 120	ul
Decremento;	ul	ul	R2: 30	ul
Incremento;	ul	ul		ul

Intervallo linearità (standard); 0-500	Limite linearità: 0,3
Intervallo linearità (decremento):	Esaurim. substrato: 5,000
Intervallo linearità (incremento):	Assorb. bianco mix: -40000 40000
Assorb. bianco R1: -40000 40000	Stabilità in macchina: 30 Giorni
Risposta bianco -40000 40000	Limite allarme reagente: 5
Doppia chim.:	

Controllo eff. prozona:		
Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Risultato qualitativo:		
Intervallo:	Val. fuori norma:	

Pendenza Offset:			
Pendenza	Offset	Unità	
1	0	U/l	

Tratt. preliminare:			
Vol. campione pretratt.:	ul	Vol. reagente pretratt.:	ul

Intervallo rif.:					
Tipo campione:	Sesso:	Intervallo età:	Intervallo rif.:	Intervallo critico:	Unità:

Pointe AST (SGOT) Kit reagenti

Parametri di configurazione della calibrazione

Analisi chim.	AST	Calibratore	Conc.	Pos.	N. lotto:
Impostazioni calibr.		acqua	0,0	W	
Modello mat.: Fattore K					
Fattore: 4200.00	Repliche: 2				
Limiti accettabilità					
T. calibr.: 24 h					
Diff. pendenza:	DS:				
Sensibilità:	Ripetibilità:				*Def. utente
Coeff. deter.:					
Calibr. autom.					
	T. calibr.				

Limitazioni

- I campioni con valori superiori a 500 U/l andrebbero diluiti 1:1 con soluzione fisiologica, nuovamente analizzati e i risultati andrebbero moltiplicati per 2.
- I pazienti con grave carenza di vitamina B6 potrebbero avere livelli ridotti di AST, presumibilmente a causa della mancanza di piridossal fosfato.¹³

Calibrazione

La procedura è standardizzata mediante l'assorbività millimolare della NADH, considerata pari a 6,22 a 340nm nelle condizioni di analisi descritte.

Calcolo (esempio)

Un'unità internazionale (U/l) è definita come la quantità di enzima che catalizza la trasformazione di una micromole di substrato al minuto in determinate condizioni.

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

con $\Delta \text{Abs./min.}$ = variazione media di assorbanza al minuto
 1000 = conversione di U/ml in U/l
 1,10 = volume di reazione totale (ml)
 6,22 = assorbività millimolare della NADH
 0,10 = volume del campione (ml)
 1,0 = percorso luce in cm

Esempio: se la variazione media di assorbanza al minuto = 0,12 allora $0,12 \times 1768 = 212 \text{ U/l}$

NOTA: se i parametri di analisi vengono modificati, il fattore deve essere ricalcolato utilizzando la formula riportata sopra.

Unità del SI: per convertire in unità del SI (nkat/l), moltiplicare U/l per 16,67.

Controllo qualità

La bontà della reazione va monitorata utilizzando sieri di controllo con valori normali e anomali noti di AST (SGOT). I controlli vanno eseguiti in ogni turno in cui si effettuano i test AST (SGOT). Si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca la frequenza interna dei controlli. Il controllo qualità richiesto va eseguito in conformità con le normative locali, statali e/o federali o ai requisiti di accreditamento.

Valori attesi¹³

8 - 22 U/l (30°C)

5 - 34 U/l (37°C)

Poiché i valori attesi variano in funzione di età, sesso, alimentazione, area geografica, si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca il proprio intervallo di riferimento per la procedura.

Prestazioni

- Linearità: 0-500 U/l.
- Comparazione: è stato condotto uno studio comparativo tra l'impiego dell'analizzatore Yumizen serie 200 e di un analizzatore simile per

l'applicazione del metodo. Si è ottenuto un coefficiente di correlazione di 0,996 e un'equazione di regressione $y=1,069x + 0,6$. (n=50).

- Precisione: gli studi sulla precisione sono stati condotti seguendo una modifica delle linee guida contenute nel documento EP5-T2 dell'istituto NCCLS e utilizzando un analizzatore Yumizen serie 200.¹⁴

Intra saggio			Inter-giorn.		
Media	D.S.	C.V.%	Media	D.S.	C.V.%
39,8	1,7	4,2	50,3	1,4	2,78
182,6	3,2	1,8	194,5	3,8	1,95

- Sensibilità: la sensibilità di questo reagente è stata studiata leggendo la variazione dell'assorbanza a 340 nm per un campione di soluzione fisiologica e per campioni con concentrazioni note. Sono state eseguite dieci repliche. I risultati di questa indagine hanno indicato che, sull'analizzatore utilizzato, il reagente AST (SGOT) ha mostrato una deriva del reagente minima o nulla sul campione zero. Nelle condizioni di reazione descritte, l'attività di 1 U/l di AST dà un $\Delta \text{Abs./min.}$ di 0,0004.

Riferimenti bibliografici

- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders co., p 674 (1982).
- Karmen, 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).
- Halfenscheid, J.C.M., Dijit, C.C.M., Clin. Chem. 25/ 01:55 (1979).
- Order, M., Bowers, G.N., Jr., Clin. Chem. 23:551 (1977).
- Henry, R.J., Clinical Chemistry: Principles and Technics, 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).
- NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

Legenda

Utilizzare entro (aaaa-mm-gg)	Codice lotto e gruppo
N. catalogo	Fabbricante
Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>	Limiti di temperatura
Consultare il manuale utente	Rx Only: utilizzare solo su prescrizione

12-A7561-100

Prodotto da
HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand
5449 Research Drive Canton, MI 48188

Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Rappresentante autorizzato per l'Europa:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Bruxelles, BELGIO

tel: (32)2.732.59.54 fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net

Reagenti certificati

I reagenti Pointe sono certificati per essere stati prodotti conformemente ai parametri specificati. Se entro la data di scadenza un reagente Pointe dovesse risultare non conforme alle specifiche, sarà prontamente sostituito senza alcun addebito.

Rev. 11/23 P803-A7561-MIN-IT