

Przeznaczenie

Do ilościowego oznaczania aminotransferazy asparaginianowej (AST) w surowicy za pomocą analizatora Yumizen C560. **Rx Only.**

Znaczenie kliniczne

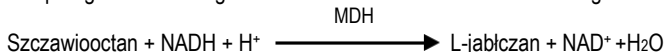
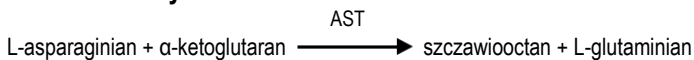
AST jest szeroko rozpowszechniony w tkankach, a najwyższe stężenia stwierdza się w wątrobie, sercu, mięśniach szkieletowych i nerkach. Choroby obejmujące którąkolwiek z tych tkanek mogą prowadzić do podwyższonego poziomu AST w surowicy. Po zawale mięśnia sercowego poziomy AST są podwyższone i osiągają szczyt po 48 do 60 godzinach.

Choroby wątroby i dróg żółciowych, takie jak marskość, rak z przerzutami i wirusowe zapalenie wątroby, mogą wykazywać podwyższony poziom AST. Inne zaburzenia, które mogą prowadzić do podwyższonego poziomu AST to dystrofia mięśniowa, zapalenie skórno-mięśniowe, ostre zapalenie trzustki i mononukleozę zakaźną.¹

Historia metody

Karmen² opracował w 1955 roku procedurę testu kinetycznego opartą na zastosowaniu dehydrogenazy jabłczanowej i NADH. Zoptymalizowane procedury przedstawili Henry³ w 1960 r. oraz Amador i Wacker⁴ w 1962 r. Modyfikacje te zwiększyły dokładność i zmniejszyły wpływ substancji zakłócających. Komitet ds. Enzymów Skandynawskiego Towarzystwa Chemii Klinicznej i Fizjologii Klinicznej⁵ opublikował w 1974 roku zalecaną metodę opartą na zoptymalizowanych modyfikacjach. W 1976 roku Panel Ekspertów ds. Enzymów Międzynarodowej Federacji Chemii Klinicznej (IFCC)⁶ zaproponował dodanie pirydoksalu-5-fosforan do mieszaniny reakcyjnej, aby zapewnić maksymalną aktywność. IFCC⁷ opublikowało zalecaną metodę, która obejmowała P-5-P w 1978 r. Obecna metoda jest oparta na zaleceniach IFCC, ale nie zawiera P-5-P, ponieważ większość próbek zawiera odpowiednie ilości tego kofaktora do pełnego przywrócenia aktywności AST.^{8,9,10}

Zasada metody



Aminotransferaza asparaginianowa (AST) katalizuje przeniesienie grupy aminowej z L-asparagianu do α -ketoglutaranu, dając szczawiooctan i L-glutaminian. Szczawiooctan ulega redukcji z jednoczesnym utlenieniem NADH do NAD w reakcji wskaźnikowej katalizowanej przez dehydrogenazę jabłczanową (MDH). Wynikająca z tego szybkość spadku absorbancji przy 340 nm jest wprost proporcjonalna do aktywności AST. Dodaje się dehydrogenazę mleczanową (LDH), aby zapobiec interferencji ze strony endogennego pirogronianu, który normalnie występuje w surowicy.

Odczynniki

Po połączeniu R1 i R2 odczynnik zawiera: kwas L-asparaginowy 200mM, kwas α -ketoglutarynowy 11mM, LDH (mikrobowy) > 1000U/L, MDH (mikrobiologiczny) \geq 800U/L, NADH >0,18mM, bufor, azydek sodu 0,28 %, stabilizatory.

Przygotowanie odczynników

Odczynniki są gotowe do użycia.

Przechowywanie odczynników

Przechowywać odczynniki w temperaturze 2-8°C. Odczynnik jest stabilny do daty ważności podanej na etykiecie, o ile jest przechowywany zgodnie z zaleceniami. Badania producenta wykazały, że odczynnik jest stabilny przez 30 dni po umieszczeniu w schłodzonej karuzeli z odczynnikami (2-10°C), jednak stabilność odczynnika może się różnić w zależności od indywidualnych warunków laboratoryjnych.

Pogorszenie jakości odczynnika

Nie używać odczynnika, jeśli:

1. Początkowa absorbancja przy 340 nm wynosi poniżej 0,800.
2. Odczynnik nie spełnia podanych parametrów działania.

Środki ostrożności i zagrożenia

1. Ten zestaw odczynników jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki in vitro.
2. Odczynnik zawiera azydek sodu (0,28%) jako środek konserwujący. Nie spożywać. Może reagować z ołowianymi i miedzianymi instalacjami wodociągowymi, tworząc wysoce wybuchowe azydki metali. Po usunięciu splukać dużą ilością wody, aby zapobiec gromadzeniu się azydku.

Zagrożenia:

R1: Klasyfikacja zagrożeń: działanie toksyczne na narządy docelowe, narażenie jednorazowe; Układ oddechowy (kategoria 3)

Zwroty wskazujące rodzaj zagrożenia: H335: „Może powodować podrażnienie dróg oddechowych”

Zwroty wskazujące środki ostrożności: Zapobieganie: P261 Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. P271 Stosować wyłącznie w dobrze wentylowanym pomieszczeniu. Reagowanie: P312 W przypadku złego samopoczucia skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUCI lub z lekarzem. P304 + P340 W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: Wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić warunki do odpoczynku w pozycji umożliwiającej swobodne oddychanie. Przechowywanie: P403 + P233 Przechowywać w dobrze wentylowanym miejscu. Przechowywać pojemnik szczelnie zamknięty. Usuwanie: P501: Zawartość usuwać do kanalizacji po rozcieńczeniu dużą ilością wody, jeżeli jest to zgodne z lokalnymi przepisami.

R2: Klasyfikacja zagrożeń: toksyczność ostra, po naniesieniu na skórę (kategoria 4),

Zwroty wskazujące rodzaj zagrożenia: H312: Działa szkodliwie w kontakcie ze skórą

Zwroty wskazujące środki ostrożności: Zapobieganie: P280 Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy. P312 W przypadku złego samopoczucia skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUCI lub z lekarzem. P363 Wyprać zanieczyszczoną odzież przed ponownym użyciem. P302 + P352 W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ: umyć dużą ilością wody z mydłem. Przechowywanie: Usuwanie: P501: Zawartość usuwać do kanalizacji po rozcieńczeniu dużą ilością wody, jeżeli jest to zgodne z lokalnymi przepisami. Zapoznaj się z kartą charakterystyki tego produktu (SDS-A7561) dostępną pod numerem telefonu 1-734-487-8300.

Pobieranie i przechowywanie próbek¹¹

1. Zalecana jest surowica niezhemolizowana. Krwinki czerwone zawierają AST, co może dawać fałszywie zawyżone wyniki.
2. AST w surowicy jest stabilny przez dziesięć dni w przypadku przechowywania w lodówce (2-8°C), dwa tygodnie w przypadku zamrożenia (-20°C) i cztery dni w przypadku przechowywania w temperaturze pokojowej (15-30°C)..



Hasło ostrzegawcze:
Ostrzeżenie



Hasło ostrzegawcze:
Ostrzeżenie

Pointe AST Reagent Set

Interferencje

1. Szereg leków i substancji wpływa na aktywność AST. Patrz Young i wsp.¹²
2. Pacjenci z poważnym niedoborem witaminy B6 mogą mieć zmniejszoną regenerację AST, prawdopodobnie z powodu braku fosforanu pirydoksalu.¹³
3. Stwierdzono, że bilirubina do co najmniej 18 mg/dl i hemoglobina do co najmniej 300 mg/dl mają znikomy wpływ na tę procedurę.

Materiały wymagane

AST (SGOT) Reagents R1 and R2

Materiały wymagane, niedostarczane

1. Analizator Yumizen C560
2. Instrukcja obsługi analizatora Yumizen C560
3. Chemistry control, numer katalogowy C7592-100

Ograniczenia

1. 1. Próbkę o wartościach powyżej 500 IU/L należy rozcieńczyć solą fizjologiczną w stosunku 1:1, ponownie oznaczyć i pomnożyć wynik przez dwa.
2. 2. Pacjenci z ciężkim niedoborem witaminy B6 mogą mieć zmniejszoną regenerację AST, prawdopodobnie z powodu braku fosforanu pirydoksalu.¹³

Kalibracja

Procedura jest standaryzowana za pomocą milimolarniej absorpcji NADH, przyjętej jako 6,22 przy 340 nm w opisanych warunkach testowych.

Kontrola jakości

Ważność reakcji należy monitorować za pomocą surowic kontrolnych ze znanymi prawidłowymi i nieprawidłowymi wartościami AST (SGOT). Kontrole te należy przeprowadzać co najmniej na każdej zmianie, podczas której wykonywane są testy AST (SGOT). Zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło własną częstotliwość oznaczania kontroli. Wymagania dotyczące kontroli jakości należy przeprowadzać zgodnie z lokalnymi, stanowymi i/lub federalnymi przepisami lub wymaganiami dotyczącymi akredytacji.

Wartości oczekiwane¹³

8 do 22 IU/L (30°C)

5 do 34 IU/L (37°C)

Ponieważ na oczekiwane wartości mają wpływ wiek, płeć, dieta i położenie geograficzne, zdecydowanie zaleca się każdemu laboratorium ustalenie własnego zakresu referencyjnego dla tej procedury.

Performance

1. Zakres pomiarowy: 3-500 IU/L.
2. Porównanie: przeprowadzono badanie Yumizen C560 i podobnego analizatora przy użyciu tej metody, w wyniku czego otrzymano następujące dane:

| Metoda | AST |
|------------------------|--------------------|
| N | 81 |
| Średnia AST (IU/L) | 81.9 |
| Zakres (IU/L) | 10-467 |
| Odchylenie standardowe | 122.8 |
| Regresja | $y = 1.034x + 4.0$ |
| Współczynnik korelacji | 0.9987 |

3. Precyzja: Badania precyzji przeprowadzono za pomocą analizatora Yumizen C560 po modyfikacji wytycznych zawartych w dokumencie NCCLS EP5-T2.¹⁴

| Próbka | W ciągu dnia | | |
|----------------------------|--------------|---------|---------|
| | NISKIE | ŚREDNIE | WYSOKIE |
| N | 20 | 20 | 20 |
| Średnia | 75.0 | 268.6 | 387.2 |
| Odchylenie standardowe | 0.8 | 1.0 | 1.8 |
| Współczynnik wariancji (%) | 1.1% | 0.4% | 0.5% |

| Próbka | Całkowite | | |
|----------------------------|-----------|---------|---------|
| | NISKIE | ŚREDNIE | WYSOKIE |
| N | 40 | 40 | 40 |
| Średnia | 71.4 | 272.2 | 384.9 |
| Odchylenie standardowe | 1.2 | 2.2 | 7.3 |
| Współczynnik wariancji (%) | 1.6% | 0.8% | 1.9% |

4. Czulość: granica wykrywalności 2 SD (95% Conf) = 3 IU/L

Piśmiennictwo

1. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders co., p 674 (1982).
2. Karmen, A., et al, J. Clin. Invest 34:126 (1955).
3. Henry, R.J., et al, Am. J. Clin. Path. 34:381 (1960).
4. Amador, E., Wacker, W., Clin. Chem. 8:343 (1962).
5. The Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology, Scand. J. Clin. Lab. Invest 32:291 (1974).
6. Expert Panel of Enzymes of the International Federation of Clinical Chemistry, Clin. Chem. Acta. 70:F19 (1976).
7. Expert Panel of Enzymes of the International Federation of Clinical Chemistry, Clin. Chem. 24:720 (1978).
8. Jung, K., Bohm, M., Enzyme 23:201 (1978).
9. Hafkenscheid, J.C.M., Dijit, C.C.M., Clin. Chem. 25/1:55 (1979).
10. Horder, M., Bowers, G.N., Jr., Clin. Chem. 23:551 (1977).
11. Henry, R.J., Clinical Chemistry: Principles and Technics, 2nd Ed., Hagerstown (MD), Harper & Row, P882 (1974).
12. Young, D.S., et al, Clin. Chem. 21:1D (1975).
13. Kaplan, L.A., Pesce, A.J., Clinical Chemistry, St. Louis, C.V. Mosby, p.911-912 (1989).
14. NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

