

## Usso previsto

Determinazione quantitativa dell'aspartato aminotransferasi (AST) nel siero umano utilizzando l'analizzatore Yumizen C560. **Solo su prescrizione.**

## Interesse clinico

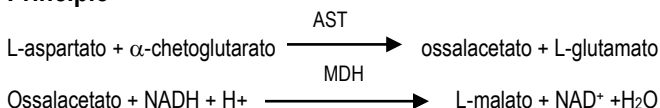
L'enzima AST è diffusamente presente nei tessuti, ma si trova in concentrazioni più elevate nel fegato, nel cuore, nei muscoli scheletrici e nei reni. Le patologie che interessano questi tessuti possono comportare la presenza di elevati livelli di AST nel siero umano. In seguito a un infarto miocardico, 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.<sup>1</sup>

## Storia del metodo diagnostico

Nel 1955 Karmen<sup>2</sup> mise punto una procedura di analisi cinetica basata sull'utilizzo di malato deidrogenasi e NADH. Procedure ottimizzate furono presentate da Henry<sup>3</sup> nel 1960 e da Amador e Wacker<sup>4</sup> 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 clinica<sup>5</sup> 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)<sup>6</sup> propose di aggiungere del piridossal-5-fosfato alla miscela di reazione, per garantirne la massima efficacia. Nel 1978, l'IFCC<sup>7</sup> 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.<sup>8,9,10</sup>

## Principio



L'aspartato aminotransferasi (AST) catalizza il trasferimento del gruppo amminico dall'L-aspartato all' $\alpha$ -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  $\alpha$ -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. Studi condotti dal produttore hanno dimostrato che, dopo essere stati inseriti nell'apposito caricatore refrigerato (2-10°C), i reagenti restano stabili per 30 giorni; tuttavia, la stabilità del reagente può variare in base alle condizioni dei singoli laboratori.

## Deterioramento dei reagenti

Non utilizzare il reagente se:

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

## Precauzioni e pericoli

1. Il reagente può essere utilizzato esclusivamente a fini diagnostici *in vitro*.
2. 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.

## Pericoli:

**R1: Classificazione dei pericoli:** Tossicità specifica per organi bersaglio – esposizione singola; apparato respiratorio (categoria 3)

**Indicazioni di pericolo:** H335: Può irritare le vie respiratorie.

**Consigli di prudenza:** **Prevenzione:** P261 Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. P271 Utilizzare soltanto all'aperto o in luogo ben ventilato. **Reazione:** P312 In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI/un medico. P304 + P340 IN CASO DI INALAZIONE: Trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. **Conservazione:** P403 + P233 Conservare in luogo ben ventilato. Tenere il recipiente ben chiuso.

**Smaltimento:** P501: Smaltire il prodotto nella rete fognaria dopo averlo diluito con abbondante acqua, se in conformità con le normative locali.

**R2: Classificazione dei pericoli:** Tossicità acuta, cutanea (categoria 4) **Indicazioni di pericolo:** H312: Nocivo per contatto con la pelle

**Consigli di prudenza:** **Prevenzione:** P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/proteggere il viso.

P312 In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI/un medico. P363 Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente. P302 + P352 IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua.

**Conservazione:** **Smaltimento:** P501: Smaltire il prodotto nella rete fognaria dopo averlo diluito con abbondante acqua, se in conformità con le normative locali. **Consultare la Scheda di sicurezza del prodotto (SDS-A7561) disponibile chiamando il numero: 1-734-487-8300.**

## Raccolta e conservazione dei campioni<sup>11</sup>

1. Si raccomanda di raccogliere siero non emolizzato. I globuli rossi contengono AST e questo può alterare i risultati, facendo registrare valori falsamente elevati.
2. L'AST nel siero è 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).



**Parola segnaletica:**  
**Attenzione**



**Parola segnaletica:**  
**Attenzione**

## Interferenze

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

## Materiali in dotazione

Reagenti AST (SGOT) R1 e R2

## Materiali necessari non in dotazione

1. Analizzatore Yumizen C560
2. Manuale utente per l'analizzatore Yumizen C560
3. Controllo chimico, numero di catalogo C7592-100

## Limitazioni

1. 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.
2. I pazienti con grave carenza di vitamina B6 potrebbero avere livelli ridotti di AST, presumibilmente a causa della mancanza di piridossal fosfato.<sup>13</sup>

## Calibrazione

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

## Controllo qualità

La bontà della reazione va monitorata utilizzando sieri di controllo con valori normali e patologici 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 attesi<sup>13</sup>

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 a ogni laboratorio di stabilire il proprio intervallo di riferimento.

## Prestazioni

1. Intervallo di analisi: 3-500 U/l.
2. Comparazione: è stato condotto uno studio comparativo tra l'impiego dell'analizzatore Yumizen C560 e di un analizzatore simile per l'applicazione del metodo. I risultati sono riportati nella tabella sottostante:

Metodo	AST
N	81
Media AST (U/l)	81,9
Intervallo (U/l)	10-467
Deviazione standard	122,8
Analisi di regressione	$y = 1,034x + 4,0$
Coefficiente di correlazione	0,9987

3. 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 C560.<sup>14</sup>

Campione	Intra-giorn.			Totale		
	BASSA	MEDIO	ALTO	BASSA	MEDIA	ALTA
N	20	20	20	40	40	40
Media	75,0	268,6	387,2	71,4	272,2	384,9
Deviazione standard	0,8	1,0	1,8	1,2	2,2	7,3
Coefficiente di variazione (%)	1,1%	0,4%	0,5%	1,6%	0,8%	1,9%

4. Sensibilità: 2SD limite di rilevabilità (95% conf) = 3 IU/L

## Riferimenti bibliografici

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. Hafkenschied, J.C.M., Dijit, C.C.M., Clin. Chem. 25/ 01:55 (1979).
10. Horder, M., Bowers, G.N., Jr., Clin. Chem. 23:551 (1977).
11. Henry, R.J., Clinical Chemistry: Principles and Technics, 2<sup>nd</sup> 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", 2<sup>nd</sup> Ed. (1992).

**PARAMETRI CHIMICI**

Analisi chim.	AST	No.:	203	Tipo campione:	Siero
Denominazione:	Aspartato transaminasi			Nome etichetta:	AST
Tipo reazione:	cinetica			Direzione reazione:	Negativa
Lungh. d'onda prim.:	340			Lungh. d'onda sec.:	412
Unità:	U/L			Decimale	0
T. bianco:	0	0		T. reazione:	56 71
	Vol. campione	Aspirato	Diluyente	Vol. reagente	Diluyente
Standard:	6.0 ul	-- ul	-- ul	R1:	120 ul -- ul
Decremento:	-- ul	-- ul	-- ul	R2:	30 ul -- ul
Incremento:	-- ul	-- ul	-- ul	R3:	-- ul -- ul
	<input type="checkbox"/> Camp. bianco	<input checked="" type="checkbox"/> Ripetiz. automat.		R4:	-- ul -- ul
<b>Regolazione pendenza/offset</b>					
Pendenza: 1		Offset: 0			

Intervallo linearità (standard)	3	500	Limite linearità:	0.3
Intervallo linearità (decremento)	___	___	Esaurim. substrato:	5000
Intervallo linearità (incremento)	___	___	Assorb. bianco mix:	
Assorb. bianco R1:	___	___	T. apertura:	
Risp. bianco:	___	___	Limite allarme reag.:	
Doppia chim.:			<input type="checkbox"/> Est. lineare enzimi:	
<input type="checkbox"/> Controllo eff. prozona		<input type="radio"/> Controllo livello	<input type="radio"/> Aggiunta antigene	
Q1:	Q2:	Q3:	Q4:	
PC:	ABS:			

# Kit reagenti AST - Pointe

## PAMETRI DI CALIBRAZIONE

<b>Definizione calibratore</b>						
Calibratore:	*			N. lotto:	*	
Data di scadenza:	*					
<b>Caricatore</b>		<b>Pos.</b>				
Caricatore campioni 1		*				
Caricatore campioni 2						
Caricatore campioni 3						
<b>Reagente/calibrazione</b>						
<u>Calibratore</u>	<u>Pos.</u>	<u>N. lotto</u>	<u>Data scad.</u>	<u>Analisi</u>	<u>Conc.</u>	<u>Unità</u>
Acqua	W	*	*	AST	0	U/L
<b>Configurazione calibrazione</b>						
Analisi chim:	AST					
<u>Impostazioni di calibrazione</u>						
Modello mat.:	fattore K					
Fattore:	4200	Repliche: 1				
<u>Limiti accettabilità</u>						
T. calibrazione:	24	h				
Diff. pendenza:	---	DS: ---				
Sensibilità:	---	Riproducibilità: ---				
Coeff. deter.:	---					
<u>Calibrazione automatica</u>						
<input type="checkbox"/> Cambio flacone	<input type="checkbox"/> Cambio lotto	<input type="checkbox"/> Ora calibrazione				

Si raccomanda di analizzare quotidianamente due livelli di materiale di controllo.

\* Indica un parametro definito dall'utente.

**REF** 14-A7561-375



Manufactured by  
HORIBA Instruments Incorporated-Pointe Brand  
5449 Research Drive Canton, MI 48188



2°C 8°C



### 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.

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

### Legenda

- Utilizzare entro (aaaa-mm-gg) **LOT** Cod. lotto e gruppo **REF** N. catalogo
- Fabbricante Limiti di temperatura Consultare il manuale utente
- IVD** Dispositivo medico-diagnostico *In vitro* **Rx Only**: utilizzare solo su prescrizione