

Kit per la determinazione dell'aspartato-aminotransferasi nel siero o plasma - Metodo UV cinetico ottimizzato IFCC*

* International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine

PRINCIPIO

L'enzima aspartato-aminotransferasi (AST) (o glutammico-ossalacetico-transaminasi/GOT) catalizza il trasferimento del gruppo -NH₂ tra l'acido L-aspartico e l'acido alfa-chetoglutarico, con formazione di acido L-glutammico e acido ossalacetico. Quest'ultimo in presenza di malato deidrogenasi (MDH) e NADH viene ridotto ad acido malico e il NADH ossidato a NAD⁺. La variazione di estinzione misurata a 340 nm, dovuta all'ossidazione del NADH a NAD⁺, è proporzionale all'attività dell'AST del campione.

REATTIVI - Concentrazione iniziale

R1 Tampone TRIS pH 7.8 80.0 mmol/l; L-aspartato 200.0 mmol/l; acido alfa-chetoglutarico 12.0 mmol/l; conservanti e stabilizzanti
R2 NADH 0.22 mmol/l; MDH ≥ 600 U/l; LDH ≥ 900 U/l

CAMPIONI

- Siero o plasma anticoagulato con eparina o EDTA.

Note

- Non utilizzare campioni emolizzati poiché l'emolisi può causare risultati falsamente positivi. Gli anticoagulanti contenenti sale d'ammonio (es. ammonio eparina) non devono essere utilizzati.
- L'attività dell'AST tende a decrescere (< 8%) dopo 3 giorni a 2-8 °C.

VALORI DI RIFERIMENTO

| Siero - plasma [U/l] | 30 °C | 37 °C |
|----------------------|-------|-------|
| Donne | ≤ 20 | ≤ 31 |
| Uomini | ≤ 24 | ≤ 38 |

I valori di riferimento sono da considerarsi indicativi in quanto ogni laboratorio dovrebbe ricercare quelli della popolazione su cui opera. I risultati del test dovrebbero essere interpretati unitamente alle informazioni derivanti dalle valutazioni cliniche del paziente.

PREPARAZIONE DEI REATTIVI

Sciogliere il contenuto del flacone R2 con:

conf. 20 ml: 20 ml del flacone R1
conf. 50 ml: 50 ml del flacone R1

Togliere i reattivi dal frigo solo il tempo necessario per il loro utilizzo e richiuderli subito dopo.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

- Conservare il kit a 2-8 °C. Non congelare i reattivi.
- Stabilità del reattivo ricostituito: 21 giorni a 2-8 °C.

NOTE

- Il kit con la presente metodica deve essere utilizzato in manuale. Per l'utilizzo in automatico consultare le applicazioni specifiche.
- Valutare attentamente i risultati se l'estinzione del reattivo di lavoro è < 1.000 a 340 nm.
- Evitare di esporre i reattivi alla luce diretta, contaminazione ed evaporazione.
- I volumi indicati nel procedimento possono essere variati proporzionalmente.
- In caso di reclamo o di richiesta del controllo di qualità del presente kit, indicare il numero di lotto riportato sulla confezione o, in alternativa, il numero di lotto dei singoli componenti.

MATERIALI AUSILIARI

Materiali necessari non contenuti nel kit: soluzioni diluenti, vetreria e monouso, sistemi di dosaggio e misurazione, calibratori per la taratura degli strumenti.

CONTROLLO DI QUALITÀ

È necessario eseguire i controlli ad ogni utilizzo del kit e verificare che i valori ottenuti siano inclusi nell'intervallo di riferimento riportato nelle istruzioni d'uso.

Sieri consigliati:

REF 20350 Precise Norm REF 20360 Precise Path

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

Il prodotto non è classificato come sostanza pericolosa (DLg. N.285 art.28 Legge n.128 del 1998). La concentrazione totale dei componenti è inferiore ai limiti riportati dalle Direttive 67/548/CEE e 88/379/CEE e successive modifiche sulla classificazione, imballaggio ed etichettatura delle sostanze pericolose.

È consigliabile tuttavia maneggiare il prodotto con cautela secondo le norme di buona pratica di laboratorio.

Attenzione: i reattivi contengono Sodio Azide (0.095%) come conservante. Evitare l'ingestione ed il contatto con pelle, occhi e mucose.

SMALTIMENTO RIFIUTI

Il prodotto deve essere smaltito secondo le locali normative in materia di gestione dei rifiuti.

PROCEDIMENTO

Lunghezza d'onda λ: 340 (334 o 365) nm
Temperatura di lavoro 37 °C (30 °C)
Cammino ottico 1 cm
Tipo di reazione cinetica (in decremento)

Portare i reattivi a 15-25 °C prima del loro utilizzo.

| CAMPIONE | BIANCO | CAMPIONE |
|------------------|---------|----------|
| --- | --- | 100 µl |
| ACQUA DISTILLATA | 100 µl | --- |
| REATTIVO | 1000 µl | 1000 µl |

Agitare poi incubare 1 min. a 37 °C. Leggere l'estinzione del campione (EC) contro acqua distillata al tempo 0 e dopo 1, 2, 3 minuti. Calcolare la variazione media di estinzione per minuto (ΔE/min).

CALCOLO

$$AST [U/l] = \Delta E/min \times 1746$$

Il fattore e le prestazioni del reattivo sono riferite a 37 °C e 340 nm.

PRESTAZIONI DEL REATTIVO

Interferenze

La bilirubina non interferisce con il test sino alla concentrazione di 40 mg/dl.
I trigliceridi non interferiscono sino alla concentrazione di 2000 mg/dl.
L'emoglobina interferisce anche a concentrazioni minime.
L'acido ascorbico non interferisce sino alla concentrazione di 30 mg/dl.

Linearità

La reazione è lineare sino alla concentrazione di 350 U/l. Campioni superiori devono essere diluiti con soluzione fisiologica. Moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

Precisione "intra-Assay" (NELLA SERIE)

Determinata su 30 replicati per ciascun controllo (L-N-H) (Low-Normal-High). Risultati ottenuti:

| MEDIA (U/l) | L = 16.02 | N = 33.80 | H = 180.65 |
|-------------|-----------|-----------|------------|
| D.S. | 0.76 | 0.82 | 3.79 |
| C.V.% | 4.76 | 2.42 | 2.10 |

Precisione "inter-Assay" (FRA LE SERIE)

Determinata su 15 replicati per ciascun controllo (L-N-H) per 3 giorni. Risultati ottenuti:

| MEDIA (U/l) | L = 18.50 | N = 38.45 | H = 183.63 |
|-------------|-----------|-----------|------------|
| D.S. | 0.65 | 0.88 | 3.92 |
| C.V.% | 3.53 | 2.29 | 2.14 |

Sensibilità analitica

Soglia di sensibilità espressa dal metodo: 3.3 U/l.





Correlazione

Un metodo equivalente preso a riferimento, correlato su 21 campioni con il reattivo in esame, ha dato un fattore di correlazione **r = 0.99**

BIBLIOGRAFIA

- Karmen A. et al.: J. Clin. Invest. 34, 126 (1955).
Young DS, Pestaner LC and Gibberman V: Clin. Chem., 21(5),1D-432D (1975).
Expert Panel on enzyme of the IFCC, Clin Chim Acta, 70, PM, (1976).
Bergmeyer HU, Horder M, Rej R.: International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) Scientific Committee. J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 24, 497 (1986).
Lorentz K, Röhle G, Siekmann L.: DG Klinische Chemie Mitteilungen, 26, 190 (1995).
Kaplan LA, Pesce AJ: "Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1996).

SIMBOLOGIA

-  Consultare istruzioni per l'uso
-  Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79/CE)
-  Limiti temperatura di conservazione
-  Dispositivo medico-diagnostico in vitro





Kit for measurement of aspartate-aminotransferase in serum or plasma - Kinetic UV optimized method IFCC*

* International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine

PRINCIPLE

The enzyme aspartate-aminotransferase (AST) (or glutamic-oxaloacetic transaminase/GOT) catalyzes reaction between alpha-ketoglutarate and L-aspartate giving glutamate and oxaloacetate. In presence of malate dehydrogenase (MDH), oxaloacetate reacts with NADH giving malate and NAD⁺. The change of absorbance measured at 340 nm is proportional to the AST activity of the sample.

REAGENTS

R1 TRIS buffer pH 7.8 80.0 mmol/l; L-aspartate 200.0 mmol/l; alpha-ketoglutarate acid 12.0 mmol/l; preservatives and stabilizers
R2 NADH 0.22 mmol/l; MDH ≥ 600 U/l; LDH ≥ 900 U/l

SAMPLE

- Serum-heparinized plasma or EDTA plasma.

Note

- Do not use samples with haemolysis because this one could cause results wrongly positive. The anticoagulants containing ammonium salt (es. ammonium heparinate) mustn't be used.
- The AST activity tends to decrease (< 8%) after 3 days at 2-8°C.

REFERENCE VALUES

| Serum - plasma [U/l] | 30°C | 37°C |
|----------------------|------|------|
| Women | ≤ 20 | ≤ 31 |
| Men | ≤ 24 | ≤ 38 |

References values are considered indicatives since each laboratory should establish references ranges for its own patient's population. The analytical results should be evaluated with other information coming from patient's clinical story.

PREPARATION OF REAGENTS

Dissolve the content of R2 vial with:

vial 20 ml: 20 ml of R1 solution
vial 50 ml: 50 ml of R1 solution

Keep out the reagents from refrigerator only for the use and recap them immediately.

STORAGE AND STABILITY

- Store the kit at 2-8°C. Do not freeze the reagents.
- Reconstituted reagent stability: 21 days at 2-8°C.

NOTE

- The kit, according to this method, must be used in manual procedures. About automatic using follow specific applications.
- Evaluate carefully the results if working reagent absorbance is < 1.000 at 340 nm.
- Avoid direct light, contamination and evaporation.
- The volumes in the procedure can be changed proportionally.
- In case of complaint or quality control request, refer to the lot number on the package or the lot number on the singles vials.

AUXILIARY EQUIPMENT

Materials not included in the kit: diluent solutions, laboratory glassware, disposable tips, photometers and calibrators.

QUALITY CONTROLS

It's necessary, every time the kit is used, to make the quality controls and to check that values obtained are within the acceptance range provided in the insert.

Suggested serum:

REF 20350 Precise Norm REF 20360 Precise Path

PRECAUTION IN USE

The product is not classified as dangerous (DLg. N. 285 art. 28 l. n. 128/1998). The total concentration of components is lower than the limits reported by 67/548 and 88/379 CE Regulations (and following modifications) about classification, packaging and labelling of dangerous substances.

However the reagent should be handled with caution, according to good laboratory practice.

Caution: the reagents contain Sodium Azide (0.095%) as preservative. Avoid swallowing and contacting with skin, eyes and mucous membranes.

WASTE MANAGEMENT

Please refer to the local legal requirements.

PROCEDURES

Wavelength λ: 340 (334 o 365) nm
Working temperature 37°C (30°C)
Optical path 1 cm
Reaction kinetic (decreasing)

Bring the reagents at 15-25°C before using them.

| | BLANK | SAMPLE |
|-----------------|---------|---------|
| SAMPLE | --- | 100 µl |
| DISTILLED WATER | 100 µl | --- |
| REAGENT | 1000 µl | 1000 µl |

Mix, then incubate for 1' a 37°C. Measure the absorbance of sample (EC) against distilled water every minute during 3 minutes. Calculate the average absorbance difference per minute (ΔE/min).

CALCULATION

$$\text{AST [U/l]} = \Delta E/\text{min} \times 1746$$

The factor and the reagent performances are related to 37°C and 340 nm.

ANALYTICAL PERFORMANCES

Interferences

Bilirubin does not interfere up to concentration of 40 mg/dl.
Triglycerides do not interfere up to concentration of 2000 mg/dl.
Hemoglobin interferes also at minimum concentrations.
Ascorbate acid does not interfere up to concentration of 30 mg/dl.

Linearity

Reaction is linear up to a concentration of 350 U/l. Samples with values exceeding this range must be diluted with saline solution. Multiply, then, the result for diluting factor.

"Intra-Assay" precision (within-Run)

Determined on 30 samples for each control (L-N-H) (Low-Normal-High).

Results:

| | | | |
|------------|-----------|-----------|------------|
| MEAN (U/l) | L = 16.02 | N = 33.80 | H = 180.65 |
| S.D. | 0.76 | 0.82 | 3.79 |
| C.V.% | 4.76 | 2.42 | 2.10 |

"Inter-Assay" precision (between-run)

Determined on 15 samples for each control (L-N-H) for 3 days.

Results:

| | | | |
|------------|-----------|-----------|------------|
| MEAN (U/l) | L = 18.50 | N = 38.45 | H = 183.63 |
| S.D. | 0.65 | 0.88 | 3.92 |
| C.V.% | 3.53 | 2.29 | 2.14 |

Analytical sensitivity

The test sensitivity in terms of detection limit is 3.3 U/l.

Correlation

A study based comparing this method with a similar method on 21 samples has given a correlating factor $r = 0.99$

BIBLIOGRAPHY

Karmen A. et al.: J. Clin. Invest. 34, 126 (1955).
Young DS, Pestaner LC and Gibberman V: Clin. Chem., 21(5),1D-432D (1975).
Expert Panel on enzyme of the IFCC, Clin Chim Acta, 70, PM, (1976).
Bergmeyer HU, Horder M, Rej R.: International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) Scientific Committee. J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 24, 497 (1986).
Lorentz K, Röhle G, Siekmann L.: DG Klinische Chemie Mitteilungen, 26, 190 (1995).
Kaplan LA, Pesce AJ: "Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1996).

SYMBOLS



Read instruction for use



CE mark (requirement of 98/79 regulation)



Storing temperature limits



In vitro medical device



Producer