



IVD Per uso diagnostico in vitro
REF 10139 - 5x50 ml
 V10139 - 5x20+5x5 ml
 H10139 - 4x80+2x40 ml

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 di Goods pH 7.8 80.0 mmol/l; L-aspartato 240.0 mmol/l; LDH ≥ 1800 U/l; MDH ≥ 800 U/l

R2 Tampone di Goods pH 7.8 80.0 mmol/l; acido alfa-chetoglutarico 65.0 mmol/l; NADH ≥ 1.18 mmol/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]	37°C
Donne	≤ 31
Uomini	≤ 38

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

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

- Conservare il kit a 2-8°C. Non congelare i reattivi.

- Dopo l'apertura, i flaconi **R1** ed **R2** sono stabili fino alla data di scadenza indicata se richiudi immediatamente dopo il prelievo, protetti da contaminazione, evaporazione, luce diretta e conservati alla temperatura corretta.

- Stabilità della soluzione di lavoro (**R1 + R2**): 30 giorni a 2-8°C.

PREPARAZIONE DEI REATTIVI

I reattivi sono liquidi e pronti all'uso. Per l'utilizzo come monoreattivo (procedimento "campione starter") aggiungere ogni 4 ml del reattivo **R1**, 1 ml del reattivo **R2**. Togliere i reattivi dal frigo solo il tempo necessario per il loro utilizzo e richiuderli subito dopo.

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 non attivi (conservanti, detergenti ecc..) 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 nm
 Temperatura di lavoro 37°C
 Cammino ottico 1 cm
 Tipo di reazione cinetica (in decremento)

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

- PROCEDIMENTO MONOREATTIVO "campione starter"

REATTIVO DI LAVORO	BIANCO	CAMPIONE
ACQUA DISTILLATA	1000 µl	1000 µl
CAMPIONE	100 µl	--
	--	100 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).

- PROCEDIMENTO BIREATTIVO "substrato starter"

REATTIVO R1	BIANCO	CAMPIONE
ACQUA DISTILLATA	800 µl	800 µl
CAMPIONE	100 µl	--
	--	100 µl

Mescolare poi incubare a 37°C per circa 1 min., quindi aggiungere:

REATTIVO R2	BIANCO	CAMPIONE
	200 µl	200 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

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

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 440 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 = 16.20	N = 35.00	H = 179.50
D.S.	0.66	1.03	4.93
C.V.%	4.10	2.96	2.74

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 = 17.58	N = 35.51	H = 174.22
D.S.	0.59	0.78	2.86
C.V.%	3.37	2.20	1.64

Sensibilità analitica

Soglia di sensibilità espressa dal metodo: 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).
 Lorentz K, Röhle G, Siekmann L.: DG Klinische Chemie Mitteilungen, 26, 190 (1995).
 Bergmeyer HU, Horder M, Rej R.: International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) Scientific Committee. J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 24, 497 (1986).
 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



Fabbricante



IVD For in vitro medical device
REF 10139 - 5x50 ml
 V10139 - 5x20+5x5 ml
 H10139 - 4x80+2x40 ml

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 Goods buffer pH 7.8 80.0 mmol/l; L-aspartate 240.0 mmol/l; LDH ≥ 1800 U/l; MDH ≥ 800 U/l

R2 Goods buffer pH 7.8 80.0 mmol/l; alpha-ketoglutarate 65.0 mmol/l; NADH ≥ 1.18 mmol/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]	37°C
Women	≤ 31
Men	≤ 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.

STORAGE AND STABILITY

- Store the kit at 2-8°C. Do not freeze the reagents.
- After opening, the vials **R1** and **R2** are stable up to the expiry date if recapped immediately and protected from contamination, evaporation, direct light, and stored at the correct temperature.
- Working solution stability (**R1+ R2**): 30 days at 2-8°C.

PREPARATION OF REAGENTS

Reagents are liquid and ready to use. About using as monoreagent ("sample-starter" procedure) add to every 4 ml of **R1** reagent, 1 ml of **R2** reagent. Keep out the reagents from refrigerator only for the use and recap them immediately.

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 inactive components (preservatives, surfactants and so on) 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 nm
 Working temperature 37°C
 Optical path 1 cm
 Reaction kinetic (decreasing)

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

- MONOREAGENT PROCEDURE "sample starter"

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

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

- BIREAGENT PROCEDURE "substrate starter"

REAGENT R1	BLANK	SAMPLE
DISTILLED WATER	800 µl	800 µl
SAMPLE	100 µl	--
	--	100 µl

Mix, incubate at 37°C for 1' and then add:

REAGENT R2	BLANK	SAMPLE
	200 µl	200 µl

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

CALCULATION

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

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 440 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 = 16.20	N = 35.00	H = 179.50
S.D.	0.66	1.03	4.93
C.V.%	4.10	2.96	2.74

"Inter-Assay" precision (between-run)

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

Results:

MEAN (U/l)	L = 17.58	N = 35.51	H = 174.22
S.D.	0.59	0.78	2.86
C.V.%	3.37	2.20	1.64

Analytical sensitivity

The test sensitivity in terms of detection limit is 0.3 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).
- Lorentz K, Röhle G, Siekmann L.: DG Klinische Chemie Mitteilungen, 26, 190 (1995).
- Bergmeyer HU, Horder M, Rej R.: International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) Scientific Committee. J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 24, 497 (1986).
- 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