

REF 10206-4 4 X 28 mL / 10 mL

ASPARTATO AMINOTRANSFERASI (AST)

Ciascun flacone contiene un volume utilizzabile di 28 mL di reagente R1; la fiala da 10 mL contiene 10 mL di reagente R2.

USO PREVISTO

Il reagente AST EasyRA è indicato per la misurazione quantitativa dell'enzima aspartato aminotransferasi nel siero e nel plasma umani (con litio eparina come anticoagulante) utilizzando l'Analizzatore chimico clinico MEDICA EasyRA®. I dosaggi di aspartato aminotransferasi trovano applicazione nella diagnosi e nella cura di certi tipi di cardiopatie e di patologie epatiche.

Per uso diagnostico *in vitro*. Solo per uso professionale.

RIEPILOGO E SPIEGAZIONE

L'aspartato aminotransferasi è un enzima riscontrato principalmente nel fegato, nel cuore, nei globuli rossi e nei tessuti muscolari.¹ Il danno alle cellule di tali tessuti provoca un innalzamento dell'aspartato aminotransferasi nel siero proporzionale al danno stesso. Il livello di aspartato aminotransferasi è anche significativamente elevato nei pazienti affetti da epatiti virali e cirrosi, oltre che in presenza di infarto del miocardio.^{2, 3}

PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

L'analisi si basa su una serie di reazioni descritte di seguito. Innanzitutto, l'enzima AST catalizza il trasferimento del gruppo amminico aspartato ad α -ketoglutarato (α -KG) con la formazione di L-glutammato e oxaloacetato (OAA).

AST

L-aspartato + α -KG \rightarrow OAA + L-Glutammato

L'OAA viene quindi ridotto a L-malato reagendo con NADH in una reazione catalizzata dalla malato deidrogenasi (MDH).

MDH

OAA + NADH + H⁺ \rightarrow L-Malato + NAD⁺

In questa seconda reazione, la quantità di NADH che viene ossidato a NAD genera la diminuzione dell'assorbanza a 340 nm. Tale diminuzione viene seguita spettrofotometricamente ed è direttamente proporzionale all'attività dell'aspartato aminotransferasi nel siero. La lattato deidrogenasi (LDH) è compresa nel reagente per ridurre rapidamente qualunque piruvato presente nel siero al fine di ridurre al minimo l'interferenza con la misurazione. Il metodo iniziale è stato sviluppato da Karmen^{4, 5} e perfezionato da Bergmeyer et al.⁶ La metodologia di analisi AST EasyRA si basa sul metodo consigliato dalla IFCC.⁷

REAGENTI

Reagente tampone per aspartato aminotransferasi (R1):

Tampone Tris, pH 7,65 (30° C)	110 mmol/L
L-aspartato	320 mmol/L
LDH (microrganismo)	≥ 1200 U/L
MDH (muscolo del suino)	≥ 800 U/L

Reagente substrato per aspartato aminotransferasi (R2):

α -ketoglutarato	85 mmol/L
NADH (sale bisodico)	1 mmol/L

PRECAUZIONI

1. Seguire sempre buone prassi di sicurezza di laboratorio quando si maneggiano reagenti di laboratorio. (CLSI, GP17-A3).
2. I reagenti contengono meno dello 0,1% di azoturo di sodio, che potrebbe reagire con le tubature in rame e piombo formando accumuli altamente esplosivi di azidi metallici. Per informazioni su rischi, pericoli e sicurezza fare riferimento alle schede di sicurezza (SDS).
3. Come per qualunque altra procedura di test diagnostico, i risultati devono essere interpretati alla luce dei risultati prodotti da altri test e dello stato clinico del paziente.
4. Non utilizzare cuvette lavate.

ISTRUZIONI PER LA MANIPOLAZIONE, LA CONSERVAZIONE E LA STABILITÀ DEL REAGENTE

I reagenti R1 e R2 devono essere combinati nel flacone prima dell'uso. I reagenti in confezione chiusa si mantengono stabili fino alla data di scadenza presente sull'etichetta se conservati ad una temperatura di 2 - 8° C. Il reagente di lavoro rimane stabile on-board nell'Analizzatore chimico clinico EasyRA per il numero di giorni programmati sul chip RFID del flacone del reagente. Non usare il reagente qualora questo si presenti torbido od opaco o nel caso in cui non riesca a recuperare i valori noti di controllo del siero. Proteggere dalla luce.

PRELIEVO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI/STABILITÀ

Per la raccolta del plasma è possibile utilizzare provette con rivestimento in litio-eparina. È necessario usare campioni puliti non emolizzati. L'aspartato aminotransferasi è stabile in siero o plasma fino a 7 giorni ad una temperatura di 2 - 8° C.^{8,9}

Limiti

Si deve evitare l'emolisi in quanto la concentrazione di aspartato aminotransferasi nei globuli rossi è circa 10 volte rispetto a quella del siero.¹⁰ I campioni emolizzati con ≥ 250 mg/dL di emoglobina possono innalzare i valori di aspartato aminotransferasi di 6 U/L o più.

PROCEDURA

Materiale fornito

Flacone di reagente/fiala R2 per aspartato aminotransferasi Medica, RIF 10206-4

Ulteriore materiale necessario

Medica EasyQC® Chimica/Elettroliti – Livello A, REF 10793

Medica EasyQC® Chimica/Elettroliti – Livello B, REF 10794

Flacone per analisi colorimetrica di precisione Medica, REF 10764

Flacone di detergente Medica – Chimica e ISE, REF 10660 o

Flacone di detergente – Chimica, REF 10661

Istruzioni per l'uso

I reagenti R1 e R2 devono essere combinati nel flacone prima dell'uso. Il reagente R1 si trova nel flacone. Aggiungere l'intero contenuto del piccolo contenitore contenente il reagente R2 al flacone e miscelare bene capovolgendo il flacone prima dell'uso. Il reagente di lavoro utilizzabile sarà in totale di 38 mL dopo la miscelazione. Rimuovere il tappo dal reagente di lavoro e collocarlo nel piatto reagenti dell'Analizzatore chimico clinico EasyRA situato nell'area reagente. La stabilità on-board (44 giorni massimo) del reagente di lavoro è programmata sul chip RFID del flacone del reagente.

Nota: verificare che non sia presente schiuma all'interno del collo del flacone dopo aver rimosso il tappo e averlo collocato sull'analizzatore. Qualora fosse presente schiuma, rimuoverla con un tampone o una pipetta monouso prima di eseguire il test.

Calibrazione

Non applicabile.

Controllo qualità

Si consiglia di eseguire due livelli di controllo del siero umano (normale e anomalo) con l'analisi almeno una volta al giorno quando si eseguono test su pazienti e ogni qual volta il lotto di reagenti cambia. Il mancato raggiungimento dell'intervallo corretto di valori nel test del materiale di controllo può essere indice di deterioramento del reagente, malfunzionamento dello strumento o errori procedurali. Quando viene utilizzato il materiale di controllo qualità, il laboratorio deve attenersi alla normativa locale, nazionale e federale in materia di controllo di qualità.

Risultati

Dopo aver completato l'analisi, l'Analizzatore chimico clinico EasyRA calcola la concentrazione di aspartato aminotransferasi dal cambiamento di assorbanza al minuto, dal volume del campione, dal volume di reazione totale, dalla lunghezza di 0,6 cm del cammino ottico e dalla assorbività molare di 6,22.

$$\text{AST (U/L)} = (\Delta A/\text{min}) \times \frac{(\text{volumetotale}(\mu\text{L}) \times 1000)}{(\text{assorbività molare} \times \text{camminooptico}(\text{cm}) \times \text{volumecampione}(\mu\text{L}))}$$

L'U/L dell'attività dell'aspartato aminotransferasi è la quantità di enzima in grado di ossidare una $\mu\text{mol/L}$ di NADH al minuto.

VALORI ATTESI¹¹

L'intervallo di riferimento per l'aspartato aminotransferasi serica è il seguente:

Normale: da 8 a 40 U/L (37° C)

Tali valori rappresentano delle linee guida. Si consiglia a ciascun laboratorio di stabilire il proprio intervallo di valori attesi, in quanto esistono differenze tra strumenti, laboratori e popolazioni locali.

Limiti procedurali (ad es., se il campione è al di sopra dell'intervallo di misura)

Usare esclusivamente campioni non emolizzato. Evitare di usare campioni visibilmente torbidi.

Se il Cambiamento di assorbanza al minuto ($\Delta A/\text{min}$) è superiore a 0,0643, corrispondente a 400 U/L, i risultati vengono contrassegnati con "SD" (deplezione substrato). I cambiamenti di assorbanza superiori a questo tasso sono al di sopra dell'intervallo lineare del test. Se l'icona di "Riesecuzione" viene selezionata, è possibile che il campione venga ritestato utilizzando la metà (1/2) del volume del campione. I risultati del test rieseguito vengono calcolati tenendo conto dell'uso di volumi inferiori del campione. In tal modo l'intervallo accettabile del test di aspartato aminotransferasi viene esteso a 800 U/L.

CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE¹²

Intervallo accettabile

L'intervallo accettabile è compreso tra 5,5 e 400 U/L. L'intervallo esteso è compreso tra 5,5 e 800 U/L quando viene usata la metà del campione (fattore di diluizione 1:1).

Imprecisione/Correlazione (CLSI, EP09-A2)

La tabella seguente elenca i dati ottenuti in un confronto del nuovo Reagente per aspartato aminotransferasi Medica (y) su un Analizzatore chimico clinico EasyRA alla prestazione del reagente per aspartato aminotransferasi Medica precedente (x) sull'Analizzatore chimico clinico EasyRA. I dati di seguito illustrati rappresentano le singole determinazioni ottenute con il nuovo reagente per aspartato aminotransferasi Medica sull'Analizzatore chimico clinico EasyRA rispetto alla media di due valori ripetuti ottenuti con il reagente per aspartato aminotransferasi Medica precedente sull'Analizzatore chimico clinico EasyRA.

Numero di campioni	80	Intervallo dei campioni	da 10,3 a 389,5 U/L
Pendenza	1,0203	Intercetta y	- 1,183
Coefficiente di correlazione	0,9997	Equazione di regressione:	$Y = 1,0203 * X - 1,183$

La tabella seguente elenca i dati ottenuti in un confronto di campioni abbinati di siero (x) e plasma (y) con il Reagente per aspartato aminotransferasi Medica sull'Analizzatore chimico clinico EasyRA. I dati che seguono rappresentano una sola misurazione del plasma rispetto alla media di due valori replicati del siero.

Numero di campioni	60	Intervallo dei campioni	da 10,6 a 340,4 U/L
Pendenza	0,9902	Intercetta y	0,3133
Coefficiente di correlazione	0,9988	Equazione di regressione	$Y = 0,9902 * X + 0,3133$

Imprecisione (CLSI, EP05-A2)

Le misurazioni duplicate di ciascuno dei tre livelli di materiale di controllo qualità sono state analizzate due volte al giorno per 20 giorni. Da questi dati sono state determinate sia la precisione intra-serie che quella totale.

Imprecisione intra-serie:

Livello QC U/L	SD intra-serie U/L	CV intra-serie %
234,9	1,76	0,75
102,8	0,82	0,79
37,8	1,08	2,86

Imprecisione totale:

Livello QC U/L	SD imprecisione totale U/L	CV imprecisione totale %
234,9	1,97	0,84
102,8	1,14	1,11
37,8	1,23	3,25

Linearità (CLSI, EP06)

Lineare da 5,5 a 400 U/L, basata sulla regressione lineare $Y = 0,9975 * X + 0,0049$.

Limite di vuoto:	3,1 U/L	(CLSI, EP17-A)
Limite di rilevamento:	4,1 U/L	(CLSI, EP17-A)

Sostanze interferenti (CLSI, EP07)

Le interferenze inferiori al 10% sono state classificate come "non significative".
L'interferenza con l'emolisi si presenta significativa. È necessario evitare l'emolisi, in quanto la concentrazione di aspartato aminotransferasi nei globuli rossi è inferiore di 10 volte circa rispetto a quella del siero.⁹ Non utilizzare campioni emolizzati.
In livelli fino a 28 mg/dL di bilirubina non sono state riscontrate interferenze significative.
A livelli fino a 1500 mg/dL di trigliceridi non sono state riscontrate interferenze significative (usando Intralipid*[†]).
A livelli fino a 30 mg/dL di acido ascorbico non sono state riscontrate interferenze significative.

[†]Intralipid è un marchio registrato di Pharmacia AB, Clayton, NC.

Young fornisce un elenco di medicinali e altre sostanze che interferiscono con i test chimici clinici.^{13, 14}

RIFERIMENTI

- 1 Wilkensen JH. *Principles and Practice for Diagnosis Enzymology*. YearBook Medical Publishers, 1976.
- 2 Kachmar JR: *Enzymes. In Fundamentals of Clinical Chemistry*. NW Tietz, Editor, Saunders, Philadelphia 1976, p 674.
- 3 Sacks HJ, Lanchantin GF; *An elevation of serum transaminase in the jaundice state*. Am J Clin Pathol 33:97, 1960.
- 4 Karmen A., Wroblewski E, La Due JS. *J Clin. Invest.* 1955; 34: 126.
- 5 Karmen A., *J. Clin. Invest.* 1955; 34: 131.
- 6 Bergmeyer HU, Scheibe P, Wahlefeld AW. *Clin Chem* 24: 58, 1978.
- 7 Expert Panel of Enzymes of the International Federation of Clinical Chemistry (IFCC): *Part 3 Revised IFCC method for Aspartate Aminotransferase*. *Clin Chem* 24:720 1978.
- 8 IFCC. *Provisional Recommendation on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentrations of Enzymes*. *Clin Chem* 23: 887, 1977.
- 9 Guder WG, Zawta B et al. *The Quality of Diagnostic Samples*. 1st ed. Darmstadt: GIT; 2001;p. 18-19
- 10 Demetriou JA et al. *In Clinical Chemistry – Principles and Technics*, 2nd ed. RJ Henry et al. Eds. Harper & Row, Hagerstown, MD 1974, p 873.
- 11 Tietz NW, ed. *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1995: 76.
- 12 Dati in archivio presso Medica.
- 13 Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*, 2nd ed. Washington, DC. AACC Press; 1997.
- 14 Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995.

PARAMETRI DELL'ANALISI EASYRA (AST)

Lunghezza d'onda (nm)	340/405 nm
Tipo di reazione	Enzima (0)
Direzione reagente	Diminuzione
Bianco reagente	No
Bianco campione	No
Primo interv. max. camb. assorb.	0,026
Tempo di reazione	7,2 min.
Intervallo di calibrazione (massimo)	N/D
Stabilità on-board del reagente	44 giorni

Siero/plasma

Volume del campione (µl)	8
Volume del diluente (µl)	32
Volume del reagente (µl)	144
Posizioni decimali (valori predefiniti)	1
Unità (valori predefiniti)	U/L
Fattore di diluizione	1:1 (per estendere l'intervallo di misurazione)
Linearità	5,5 fino a 400 U/L

