

Aspartate Aminotransferase acc. to IFCC – senza l'attivazione dal piridossal fosfato

Informazioni per ordini

REF	CONTENT		Analizzatori su cui il cobas c pack può essere impiegato
20764949 322	Aspartate Aminotransferase acc. to IFCC (500 test)	N. d'ident. 07 6494 9	Roche/Hitachi cobas c 311, cobas c 501/502
10759350 190	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL)	Codice 401	
10759350 360	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL, per gli USA)	Codice 401	
12149435 122	Precinorm U plus (10 x 3 mL)	Codice 300	
12149435 160	Precinorm U plus (10 x 3 mL, per gli USA)	Codice 300	
12149443 122	Precipath U plus (10 x 3 mL)	Codice 301	
12149443 160	Precipath U plus (10 x 3 mL, per gli USA)	Codice 301	
10171743 122	Precinorm U (20 x 5 mL)	Codice 300	
10171778 122	Precipath U (20 x 5 mL)	Codice 301	
10171760 122	Precipath U (4 x 5 mL)	Codice 301	
05117003 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (20 x 5 mL)	Codice 391	
05947626 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL)	Codice 391	
05947626 160	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL, per gli USA)	Codice 391	
05117216 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (20 x 5 mL)	Codice 392	
05947774 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL)	Codice 392	
05947774 160	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL, per gli USA)	Codice 392	
04489357 190	Diluent NaCl 9 % (50 mL)	N. d'ident. 07 6869 3	

Italiano

Informazioni relative al sistema

Per gli analizzatori **cobas c** 311/501:

ASTL: ACN 687

SASTL: ACN 587 (STAT, tempo di reazione: 7)

Per l'analizzatore **cobas c** 502:

ASTL: ACN 8687

SASTL: ACN 8587 (STAT, tempo di reazione: 7)

Finalità d'uso

Test *in vitro* per la determinazione quantitativa dell'aspartato aminotransferasi (AST) nel siero e nel plasma umani, impiegando sistemi Roche/Hitachi **cobas c**.

Sommario^{1,2}

L'enzima aspartato aminotransferasi (AST) è largamente diffuso nei tessuti, soprattutto in quello epatico, cardiaco, muscolare e renale. Livelli elevati nel siero si riscontrano in caso delle patologie che interessano questi tessuti. Anche malattie epatobiliari, quali cirrosi, carcinoma metastatico ed epatite virale determinano un aumento dei livelli di AST nel siero. Dopo un infarto miocardico, la concentrazione di AST nel siero risulta elevata, per raggiungere il picco 2 giorni dopo l'insorgenza.

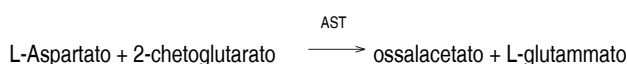
In pazienti sottoposti a dialisi renale o affetti da carenza di vitamina B₆, la concentrazione di AST nel siero può risultare diminuita. L'apparente riduzione dell'AST può essere correlata alla diminuzione del piridossal fosfato, il gruppo prostetico per l'AST; tale diminuzione provoca un aumento del rapporto dell'apoenzima rispetto all'oloenzima.

Sono stati rilevati 2 isoenzimi dell'AST, quello citoplasmatico e quello mitocondriale. Solo l'isoenzima citoplasmatico compare nel siero normale, mentre quello mitocondriale, insieme all'isoenzima citoplasmatico, è stato rilevato nel siero prelevato da pazienti con patologie coronariche ed epatobiliari.

Principio del test

Il presente metodo è conforme alle raccomandazioni dell'IFCC, ma è stato ottimizzato in termini di performance e stabilità.^{3,4}

L'AST nel campione catalizza il trasferimento di un gruppo aminico tra l'-aspartato ed il 2-chetoglutarato, formando ossalacetato e L-glutammato. L'ossalacetato quindi reagisce con NADH, in presenza di malato deidrogenasi (MDH), formando NAD⁺.



MDH



La velocità di ossidazione dell'NADH è direttamente proporzionale all'attività catalitica dell'AST. Viene determinata misurando la diminuzione dell'assorbanza.

Reattivi – soluzioni pronte all'uso

R1 Tampone TRIS: 264 mmol/L, pH 7.8 (37 °C); L-aspartato: 792 mmol/L;

MDH (microrganismo): ≥24 µkat/L; LDH (microrganismi): ≥48 µkat/L; albumina (bovina): 0.25 %; conservante

R2 NADH: ≥1.7 mmol/L; 2-chetoglutarato: 94 mmol/L; conservante

R1 si trova nella posizione A e R2 nelle posizioni B e C.

Precauzioni e avvertenze

Per uso diagnostico *in vitro*.

Osservare le precauzioni normalmente adottate durante la manipolazione dei reagenti di laboratorio.

Lo smaltimento di tutti i rifiuti deve avvenire secondo le direttive locali. Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta per gli utilizzatori professionali.

Per gli USA: attenzione: secondo la legge federale, la vendita di questo prodotto deve avvenire solo dietro richiesta di un medico.

Utilizzo dei reattivi

Pronti all'uso.

Conservazione e stabilità

ASTL

Stabilità a 2-8 °C:

Vedere la data di scadenza indicata sull'etichetta del contenitore portareagenti **cobas c** pack.

In uso e refrigerato a bordo dell'analizzatore:

12 settimane

Diluent NaCl 9 %

Aspartate Aminotransferase acc. to IFCC – senza l'attivazione dal piridossal fosfato

Stabilità a 2-8 °C:

Vedere la data di scadenza indicata sull'etichetta del contenitore portareagenti **cobas c** pack.

In uso e refrigerato a bordo dell'analizzatore:

12 settimane

Prelievo e preparazione dei campioni

Per il prelievo e la preparazione dei campioni impiegare solo provette o contenitori di raccolta adatti.

Solo i tipi di campione elencati di seguito sono stati testati e risultano accettabili.

Siero.

Plasma: plasma con litio eparina e K₂-EDTA.

I tipi di campione elencati sono stati testati impiegando una selezione di provette per il prelievo di campioni disponibili in commercio al momento dell'analisi; non sono, quindi, state testate tutte le provette disponibili di tutte le case produttrici. Alcuni sistemi per il prelievo di campioni di vari produttori possono contenere diversi materiali e in alcuni casi possono interferire sui risultati del test. Quando si trattano i campioni in provette primarie (sistemi per il prelievo di campioni), seguire le istruzioni del produttore delle provette.

I campioni contenenti precipitati devono essere centrifugati prima dell'esecuzione del test.

Per informazioni dettagliate relative alle possibili interferenze dai campioni, consultare la sezione "Limiti del metodo – interferenze".

Le indicazioni relative alla stabilità dei campioni sono state stabilite in base ai dati ottenuti in studi eseguiti dal produttore o in base alla letteratura di riferimento e solo per le temperature / gli intervalli di tempo riportati nella metodica. È responsabilità del laboratorio individuale utilizzare tutti i riferimenti disponibili e/o i propri studi effettuati per determinare i criteri specifici relativi alla stabilità validi per il proprio laboratorio.

Stabilità:⁵

4 giorni a 20-25 °C

7 giorni a 4-8 °C

3 mesi a -20 °C

Materiali a disposizione

Per i reattivi, vedere la sezione "Reattivi – soluzioni pronte all'uso".

Materiali necessari (ma non forniti)

- Vedere la sezione "Informazioni per ordini".
- Normale attrezzatura da laboratorio

Esecuzione

Per una performance ottimale del test, attenersi alle indicazioni riportate nel presente documento per l'analizzatore in questione. Per le istruzioni specifiche dell'analizzatore relative all'esecuzione del test, consultare il manuale d'uso dello strumento.

Roche non risponde delle performance delle applicazioni che non sono state validate dalla stessa Roche – tali performance devono quindi essere definite dall'utilizzatore.

Applicazione per il siero ed il plasma

Definizione del test per l'analizzatore cobas c 311

Tipo di misura	Cinetica
Tempo di reazione / punti di misura	10 / 12-31 (STAT: 7 / 12-31)
Lunghezze d'onda (sec./princ.)	700/340 nm
Andamento della reazione	Decrescente
Unità di misura	U/L (μkat/L)
Volumi dei reagenti	Diluyente (H ₂ O)
R1	40 μL 51 μL

R2	17 μL	20 μL
<i>Volumi dei campioni</i>	<i>Campione</i>	<i>Diluizione del campione</i>
		<i>Campione</i> <i>Diluyente (NaCl)</i>
Normale	9 μL	–
Ridotto (Diluito)	9 μL	15 μL 135 μL
Concentrato	9 μL	–

Definizione del test per l'analizzatore cobas c 501

Tipo di misura	Cinetica		
Tempo di reazione / punti di misura	10 / 18-46 (STAT: 7 / 18-46)		
Lunghezze d'onda (sec./princ.)	700/340 nm		
Andamento della reazione	Decrescente		
Unità di misura	U/L (µkat/L)		
Volumi dei reagenti		Diluyente (H ₂ O)	
R1	40 µL	51 µL	
R2	17 µL	20 µL	
<i>Volumi dei campioni</i>	<i>Campione</i>	<i>Diluizione del campione</i>	
		<i>Campione</i>	<i>Diluyente (NaCl)</i>
Normale	9 µL	–	–
Ridotto (Diluito)	9 µL	15 µL	135 µL
Concentrato	9 µL	–	–

Definizione del test per l'analizzatore cobas c 502

Tipo di misura	Cinetica		
Tempo di reazione / punti di misura	10 / 18-46 (STAT: 7 / 18-46)		
Lunghezze d'onda (sec./princ.)	700/340 nm		
Andamento della reazione	Decrescente		
Unità di misura	U/L (µkat/L)		
Volumi dei reagenti		Diluyente (H ₂ O)	
R1	40 µL	51 µL	
R2	17 µL	20 µL	
<i>Volumi dei campioni</i>	<i>Campione</i>	<i>Diluizione del campione</i>	
		<i>Campione</i>	<i>Diluyente (NaCl)</i>
Normale	9 µL	–	–
Ridotto (Diluito)	9 µL	15 µL	135 µL
Concentrato	18 µL	–	–
Calibrazione			
Calibratori	S1: H ₂ O S2: C.f.a.s.		
Tipo di calibrazione	Lineare		
Frequenza di calibrazione	Calibrazione a 2 punti		
	• a cambio di lotto del reattivo		
	• se richiesto dai procedimenti del controllo di qualità		

Aspartate Aminotransferase acc. to IFCC – senza l'attivazione dal piridossal fosfato

L'intervallo di calibrazione può essere esteso in base a valori accettabili della verifica di calibrazione da parte del laboratorio.

Tracciabilità: questo metodo è stato standardizzato contro la formulazione originale dell'IFCC, impiegando pipette calibrate insieme ad un fotometro manuale, fornendo valori assoluti e l'assorbidività specifica del substrato, ε.⁶

Controllo di qualità

Per il controllo di qualità, impiegare i materiali di controllo indicati nella sezione "Informazioni per ordini".

In aggiunta, è possibile utilizzare altro materiale di controllo appropriato.

Gli intervalli ed i limiti del controllo dovranno essere conformi alle esigenze individuali di ogni laboratorio. I valori ottenuti devono rientrare nei limiti definiti. Ogni laboratorio deve definire delle misure correttive da attuare nel caso che alcuni valori siano al di fuori dei limiti definiti.

Per il controllo di qualità, attenersi alle normative vigenti e alle linee guida locali.

Calcolo

I sistemi Roche/Hitachi **cobas c** effettuano il calcolo automatico dell'attività dell'analita di ciascun campione.

Fattore di conversione: $U/L \times 0.0167 = \mu\text{kat/L}$

Limiti del metodo – interferenze

Valutazione: recupero entro $\pm 10\%$ del valore iniziale ad un'attività dell'AST di 30 U/L (0.50 $\mu\text{kat/L}$).

Ittero:⁷ nessuna interferenza significativa fino ad un indice I di 60 per la bilirubina coniugata e non coniugata (concentrazione di bilirubina coniugata e non coniugata: ca. 1026 $\mu\text{mol/L}$ oppure 60 mg/dL).

Emolisi:⁷ nessuna interferenza significativa fino ad un indice H di 40 (concentrazione di emoglobina: ca. 25.6 $\mu\text{mol/L}$ oppure 40 mg/dL). Una contaminazione da eritrociti determina risultati elevati poiché il livello dell'analita negli eritrociti è superiore a quello riscontrato nei sieri normali. Il livello di interferenza può variare a seconda della concentrazione dell'analita negli eritrociti lisati.

Lipemia (Intralipid):⁷ nessuna interferenza significativa fino ad un indice L di 150. Non esiste una buona correlazione tra l'indice L (corrisponde alla torbidità) e la concentrazione di trigliceridi.

I campioni lipemici possono provocare un messaggio relativo ad un'assorbanza troppo alta (>Abs). Per il rerun automatico scegliere il trattamento del campione diluito.

Farmaci: non si è osservata alcuna interferenza a concentrazioni terapeutiche impiegando le più comuni famiglie di farmaci.^{8,9}

Cyanokit (l'idrossocobalamina) può provocare interferenze con i risultati. Concentrazioni fisiologiche di sulfasalazina e di sulfapiridina nel plasma possono provocare risultati erranei.

In casi molto rari, la gammopatia, particolarmente di tipo IgM (macroglobulinemia di Waldenström), può causare risultati inaffidabili.¹⁰

Ai fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati congiuntamente con la storia clinica del paziente, con gli esami clinici e con altre evidenze cliniche.

AZIONI RICHIESTE

Programmazione extra lavaggi: è assolutamente necessario effettuare specifiche fasi di lavaggio se certe combinazioni di test vengono eseguite insieme sui sistemi Roche/Hitachi **cobas c**. La versione più recente dell'elenco dei possibili carry-over si trova allegata alle metodiche NaOHD - SMS - SmpCln1+2 - SCCS. Per ulteriori istruzioni, consultare il manuale d'uso.

Analizzatore **cobas c 502**: tutte le programmazioni di extra lavaggi richieste per evitare possibili carry-over sono disponibili tramite **cobas link**; in determinati casi è comunque necessario effettuare inserimenti manuali.

È necessario implementare la procedura di extralavaggio (qualora richiesta) prima di riportare i risultati di questo test.

Limiti ed intervalli**Intervallo di misura**

5-700 U/L (0.08-11.7 $\mu\text{kat/L}$)

Determinare i campioni con attività più alte con la funzione rerun. La diluizione dei campioni con la funzione rerun avviene nel rapporto 1:10.

I risultati ottenuti con i campioni diluiti con la funzione rerun vengono automaticamente moltiplicati per il fattore 10.

Limiti inferiori di misura**Limite di sensibilità inferiore del test**

5 U/L (0.08 $\mu\text{kat/L}$)

Il limite di sensibilità inferiore rappresenta la minima concentrazione misurabile dell'analita che può essere distinta dallo 0. Viene calcolato come il valore che si trova 3 deviazioni standard al di sopra dello standard più basso (standard 1 + 3 DS, ripetibilità, n = 21).

Valori di riferimento¹¹

Secondo il metodo standard ottimizzato (paragonabile al metodo dell'IFCC senza l'attivazione dal piridossal fosfato¹²):

Uomini: fino a 40 U/L (fino a 0.67 $\mu\text{kat/L}$)

Donne: fino a 32 U/L (fino a 0.53 $\mu\text{kat/L}$)

Valori calcolati: per la conversione dei valori da 25 °C a 37 °C si utilizza il fattore 2.13.¹³

Ogni laboratorio deve controllare l'applicabilità dei valori di riferimento alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare intervalli di riferimento propri.

Dati specifici sulla performance del test

Qui di seguito sono riportati i dati rappresentativi delle prestazioni sugli analizzatori. I risultati dei singoli laboratori possono differire da questi.

Precisione

La precisione è stata determinata usando campioni umani e controlli, eseguiti in base ad un protocollo interno: ripetibilità (n = 21), precisione intermedia (3 aliquote per serie, 1 serie al giorno, 20 giorni).

Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

Ripetibilità	Media	DS	CV
	U/L ($\mu\text{kat/L}$)	U/L ($\mu\text{kat/L}$)	%
Precinorm U	36.6 (0.611)	0.3 (0.005)	0.8
Precipath U	128 (2.14)	1 (0.02)	0.4
Siero umano 1	126 (2.10)	1 (0.02)	0.4
Siero umano 2	12.0 (0.200)	0.4 (0.007)	3.1
Precisione intermedia	Media	DS	CV
	U/L ($\mu\text{kat/L}$)	U/L ($\mu\text{kat/L}$)	%
Precinorm U	36.7 (0.613)	0.5 (0.008)	1.3
Precipath U	130 (2.17)	1 (0.02)	0.8
Siero umano 3	30.0 (0.501)	0.7 (0.012)	2.3
Siero umano 4	121 (2.02)	2 (0.03)	1.9

Confronto tra metodi

I valori di AST ottenuti per campioni di siero e di plasma umani su un analizzatore Roche/Hitachi **cobas c 501** (y) sono stati confrontati con quelli determinati con il reagente corrispondente su un analizzatore Roche/Hitachi 917 (x).

Dimensione (n) del campione = 192

Passing/Bablok ¹⁴	Regressione lineare
$y = 1.000x - 0.149 \text{ U/L}$	$y = 0.991x + 1.22 \text{ U/L}$
$r = 0.970$	$r = 0.999$

Le attività dei campioni erano comprese tra 30.4 e 674 U/L (tra 0.508 e 11.3 $\mu\text{kat/L}$).

Letteratura

- Nagy B. Muscle disease. In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry, theory, analysis, and correlation. St. Louis: Mosby 1984;514.
- Moss DW, Henderson AR, Kachmar JF. Enzymes. In: Tietz NW, ed. Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders 1987;346-421.

Aspartate Aminotransferase acc. to IFCC – senza l'attivazione dal piridossal fosfato

- 3 Bergmeyer HU, Hørdler M, Rej R. Approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 2. IFCC Method for aspartate aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1986;24:497-510.
- 4 ECCLS. Determination of the catalytic activity concentration in serum of L-aspartate aminotransferase (EC 2.6.1.1, ASAT). Klin Chem Mitt 1989;20:198-204.
- 5 WHO Publication: Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations, WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2:Jan 2002.
- 6 Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, et al. IFCC Primary Reference Procedures for the Measurement of Catalytic Activity Concentrations of Enzymes at 37 °C – Part 5. Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Activity Concentrations of Aspartate Aminotransferase. Clin Chem Lab Med 2002;40(7):725-733.
- 7 Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.
- 8 Breuer J. Report on the Symposium "Drug effects in Clinical Chemistry Methods". Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.
- 9 Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. Ann Clin Biochem 2001;38:376-385.
- 10 Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007;45(9):1240-1243.
- 11 Thefeld W, Hoffmeister H, Busch EW, et al. Referenzwerte für die Bestimmungen der Transaminasen GOT und GPT sowie der alkalischen Phosphatase im Serum mit optimierten Standardmethoden. Dtsch Med Wschr 1974;99(8):343-351.
- 12 Klein G, Lehmann P, Michel E, et al. Vergleich der IFCC-Methoden für ALAT, ASAT und GGT bei 37 °C mit den eingeführten Standardmethoden bei 25 °C und 37 °C. Lab Med 1994;18:403-404.
- 13 Zawta B, Klein G, Bablok W. Temperaturumrechnung in der klinischen Enzymologie? Klin Lab 1994;40:23-32.
- 14 Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem Clin Biochem 1988 Nov;26(11):783-790.

In questa metodica, per separare la parte intera da quella frazionaria in un numero decimale si usa sempre il punto. Il separatore delle migliaia non è utilizzato.

Simboli

Oltre a quelli indicati nello standard ISO 15223-1, Roche Diagnostics impiega i seguenti simboli (per gli USA: per la definizione dei simboli impiegati, vedere <https://usdiagnostics.roche.com>):

	Contenuto della confezione
	Volume dopo ricostituzione o mescolamento
	Global Trade Item Number

Le aggiunte, cancellazioni o modifiche sono indicate mediante una linea verticale posizionata al margine.

© 2017, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com

Distribuzione negli USA:

Roche Diagnostics, Indianapolis, IN

Assistenza tecnica alla clientela negli USA: 1-800-428-2336

