

GOT / AST

Metodo cinetico UV - IFCC

R1: 5 x 50 ml + R2: 1 x 25 ml

CL36-275

USO PREVISTO

Kit per la determinazione quantitativa dell'aspartato ammino transaminase AST/GOT (EC 2.6.1.1.) nel siero e nel plasma secondo le raccomandazioni IFCC.

SIGNIFICATO CLINICO

L'AST è un enzima localizzato nel citoplasma delle cellule ed è coinvolto nel metabolismo degli aminoacidi.

L'enzima viene rilasciato in circolo in seguito a danno o morte delle cellule: l'attività misurata nel sangue è proporzionale al numero di cellule danneggiate e al tempo trascorso: dopo un danno, l'AST raggiunge il livello massimo in circolo in circa 12 ore e diminuisce in 4-5 giorni.

Il test viene utilizzato comunemente in associazione con l'altra transaminasi (ALT) per la ricerca di danno epatico da qualsiasi causa.

PRINCIPIO

L'aspartato in presenza di α -chetoglutarato viene trasformato in ossalacetato e glutammato dalla AST/GOT presente nel campione. L'ossalacetato in presenza di NADH e di malato deidrogenasi viene trasformato in malato e NAD.

Il consumo di NADH nell'unità di tempo, misurato a 340 nm, è proporzionale alla concentrazione di AST/GOT nel campione.

CAMPIONE

Siero, plasma con eparina o EDTA.

Non usare campioni emolizzati.

STABILITÀ: l'attività della AST/GOT nel siero decresce dopo 3 giorni a 2-8°C.

REAGENTI

Solo per uso diagnostico in vitro.

Reagenti liquidi pronti all'uso.

I reagenti contrassegnati con l'asterisco contengono sostanze pericolose.

Contenuto delle confezioni:	CL36-275
*REAGENT 1 Tamponi Tris (pH 8,1) 88 mmol/L, L-asparato 265 mmol/L, MDH \geq 462 U/L, LDH \geq 660 U/L, α -chetoglutarato 13,2 mmol/L, sodio azide 30 mmol/L.	5 x 50 ml
*REAGENT 2 Tamponi Tris (pH 10,2) 10 mmol/L, NADH 2,6 mmol/L, sodio azide 30 mmol/L.	1 x 25 ml

STABILITÀ: i reagenti, se conservati a 2-8°C e protetti dalla luce, sono stabili fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Una volta aperti i reagenti sono stabili 2 mesi a 2-8°C se sono state evitate contaminazioni. Conservare i flaconi chiusi quando non in uso. Non utilizzare i reagenti in caso di torbidità.

MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Normale strumentazione di laboratorio. Spettrofotometro UV/VIS munito di termostatazione. Micropipette automatiche. Cuvette in vetro ottico o monouso in polistirolo ottico. Soluzione fisiologica.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE DI LAVORO

(solo per procedimento monoreagente)

Miscelare 10 volumi di Reagent 1 con 1 volume di Reagent 2.

Stabilità: 5 giorni a 20-25°C oppure 4 settimane a 2-8°C se conservato ben chiuso ed al riparo dalla luce.

PROCEDIMENTO MANUALE

Metodo:	cinetica in decremento
Lunghezza d'onda:	340 nm (334 - 365)
Cammino ottico:	1 cm
Temperatura:	30 o 37°C
Tempo di lettura:	3 minuti
Letture:	contro aria o acqua distillata
Ratio Campione/Reagenti (bireagente):	1/10/1
Ratio Campione/Reagente (monoreagente):	1/10

Procedimento bireagente

Portare i reagenti test alla temperatura prescelta per l'analisi.

Pipettare in cuvetta:

Campione	100 μ l
Reagent 1	1,0 ml

Miscelare ed incubare alla temperatura prescelta per 1 minuto. Aggiungere:

Reagent 2	100 μ l
-----------	-------------

Miscelare e incubare alla temperatura prescelta per 1 minuto. Leggere l'assorbanza iniziale, ripetere la lettura ad intervalli costanti di 1 minuto per 3 minuti. Calcolare il valore medio delle variazioni di assorbanza per minuto ($\Delta A/\text{min}$).

Procedimento monoreagente

Portare il reagente di lavoro alla temperatura prescelta per l'analisi.

Pipettare in provetta:

Campione	100 μ l
Reagente di lavoro	1,0 ml

Miscelare e travasare nella cuvetta di lettura. Incubare alla temperatura prescelta per 1 minuto. Leggere l'assorbanza iniziale, ripetere la lettura ad intervalli costanti di 1 minuto per 3 minuti. Calcolare il valore medio delle variazioni di assorbanza per minuto ($\Delta A/\text{min}$).

I volumi di reazione (per entrambi i procedimenti) possono essere variati proporzionalmente senza alcuna modifica nel calcolo.

CALCOLO

Calcolare l'attività enzimatica nel campione analizzato moltiplicando il $\Delta A/\text{min}$ trovato per il fattore opportuno riportato nella seguente tabella.

λ	Procedimento Monoreagente	Procedimento Bireagente
334 nm	1780	1945
340 nm	1746	1905
365 nm	3235	3529

INTERVALLO DI RIFERIMENTO

	30°C	37°C
Uomini	fino a 25 U/L	fino a 37 U/L
Donne	fino a 21 U/L	fino a 31 U/L

E' comunque opportuno che ciascun laboratorio provveda a definire il proprio intervallo di riferimento

CONTROLLO DI QUALITÀ - CALIBRAZIONE

Si raccomanda un programma di Controllo Qualità a tutti i laboratori di Chimica Clinica. Allo scopo sono disponibili a richiesta sieri di controllo a base umana:

PRE-NORM sieri con valori nell'ambito della normalità

PRE-PATH sieri con valori patologici.

Se il metodo lo richiede è disponibile un calibratore multiparametrico a base umana.

Contattare FAR per ulteriori informazioni.

PRESTAZIONI DEL METODO

Sensibilità

La sensibilità del metodo è di 3 U/L.

Linearità

Il metodo è lineare fino a 300 U/L.

Per valori superiori diluire i campioni 1:10 con soluzione fisiologica e moltiplicare il risultato ottenuto per 10.

Precisione

nella serie (n=10)	Media [U/L]	SD	CV %
Campione 1	23.5	0.95	4.0
Campione 2	238	3.36	1.4

tra le serie (N=20)	Media [U/L]	SD	CV %
Campione 1	27.0	1.41	4.2
Campione 2	222	7.05	3.17

Interferenze

Non sono state segnalate interferenze da parte dei lipidi fino a 2000 mg/dl di trigliceridi. La bilirubina non interferisce fino ad una concentrazione di 40 mg/dl.

L'acido ascorbico non interferisce fino ad una concentrazione di 30 mg/dl.

La presenza di emolisi nel campione dà origine a risultati falsi positivi.

Correlazione con metodo di riferimento

La correlazione del metodo (Y) con un metodo di riferimento (X) ha evidenziato la seguente equazione:

$$Y = 1,0681X - 3,0802$$

$$r = 0,9712$$

SMALTIMENTO

Il prodotto deve essere utilizzato all'interno di analisi professionali. Il prodotto va smaltito in conformità alla regolamentazione nazionale/internazionale.

PRECAUZIONI



REAGENTE 1 e REAGENTE 2 **ATTENZIONE: H412** Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. **H319** Provoca grave irritazione oculare. **H315** Provoca irritazione cutanea.

BIBLIOGRAFIA

- Recommendation on I.F.C.C. methods for measurement of catalytic concentrations of enzymes, Clin Chem, 23:5 (1977) Wroblewsky F., Ladue J.S., Proc. Soc. Exper. Biol and Med, 91:569 (1965).
- NCCLS Document, "Procedures for the collection of arterial blood specimens", Approved Standard, 3rd Ed. (1999).

PRODUTTORE

FAR

Via Fermi, 12 - 37026 Pescantina - VERONA - ITALY

tel +39 045 6700870

sito web <http://www.farddiag.com> e-mail: order@farddiag.com

LEGENDA SIMBOLI

	dispositivo medico diagnostico in vitro
	numero di lotto
	numero di catalogo
	limite di temperatura
	usare entro la data
	attenzione
	consultare le istruzioni d'uso