

GOT / AST

Metodo cinetico UV - IFCC

R1: 4 x 40 ml + R2: 4 x 10 ml
R1: 3 x 100 ml + R2: 1 x 75 ml

CL37-200
CL37-375

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:	CL37-200	CL37-375
*REAGENT 1 Tampono 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.	4 x 40 ml	3 x 100 ml
REAGENT 2 Tampono Tris (pH 10,2) 10 mmol/L, NADH 2,6 mmol/L, sodio azide 30 mmol/L.	4 x 10 ml	1 x 75 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 4 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
Cammino ottico:	1 cm
Temperatura:	30 o 37°C
Tempo di lettura:	3 minuti
Letture:	contro aria o acqua distillata
Ratio Campione/Reagenti (bireagente):	1/8/2
Ratio Campione/Reagente (monoreagente):	1/10

Procedimento bireagente

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

Pipettare in cuvetta:

Campione	125 μ l
Reagent 1	1,0 ml

Miscelare ed incubare alla temperatura prescelta per 3 minuti. Aggiungere:

Reagent 2	250 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.

Attività in U/l: $\Delta A/\text{min} \times 1746$

Attività in $\mu\text{kat/l}$: $U/l \times 0.0167$

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 500 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 ATTENZIONE: Provoca grave irritazione oculare (H319).

Provoca irritazione cutanea (H315). Indossare guanti protettivi. Proteggere gli occhi (P280).

BIBLIOGRAFIA

1. 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)
2. 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.fardiag.com> e-mail: order@fardiag.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