

REF	CONTENT		Analyzátoři, na kterých lze <b>cobas c</b> pack(y) použít
20764949 322	Aspartate Aminotransferase (500 testů)	Systémové ID 07 6494 9	COBAS INTEGRA 400 plus
10759350 190	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL)	Systémové ID 07 3718 6	
10759350 360	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL, pro USA)	Systémové ID 07 3718 6	
12149435 122	Precinorm U plus (10 x 3 mL)	Systémové ID 07 7999 7	
12149435 160	Precinorm U plus (10 x 3 mL, pro USA)	Systémové ID 07 7999 7	
12149443 122	Precipath U plus (10 x 3 mL)	Systémové ID 07 8000 6	
12149443 160	Precipath U plus (10 x 3 mL, pro USA)	Systémové ID 07 8000 6	
05117003 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (20 x 5 mL)	Systémové ID 07 7469 3	
05947626 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL)	Systémové ID 07 7469 3	
05947626 160	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL, pro USA)	Systémové ID 07 7469 3	
05117216 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (20 x 5 mL)	Systémové ID 07 7470 7	
05947774 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL)	Systémové ID 07 7470 7	
05947774 160	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL, pro USA)	Systémové ID 07 7470 7	
20764965 322	Pyridoxal Phosphate (10 x 10 mL)	Systémové ID 07 6496 5	

**Česky****Systémové informace**

Test ASTPL, test ID 0-594

**Použití**

In vitro test pro kvantitativní měření katalytické aktivity AST (EC 2.6.1.1; L-aspartát: 2-oxoglutarát aminotransferáza) v lidském séru a plazmě na systémech COBAS INTEGRA.

Tento metodický list popisuje aplikaci pro AST aktivovaný pyridoxalfosfátem (test ASTPL, 0-594). Aplikace pro AST bez pyridoxalfosfátu je popsána v metodickém listu Aspartátaminotransferáza.

**Souhrn<sup>1,2</sup>**

Enzym aspartátaminotransferáza je široce rozšířený v mnoha tkáních, především však jater, srdce, svalů a ledvin. Zvýšené hladiny v séru jsou důsledkem poškození těchto tkání při onemocnění. Hepatobiliární choroby, jako jsou cirhóza, metastázující karcinom a virová hepatitida, rovněž zvyšují hladiny AST v séru. Následkem infarktu myokardu se zvyšuje AST v séru a vrcholu dosahuje druhý den po nástupu.

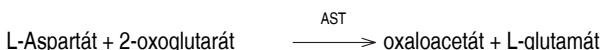
Známé jsou 2 izoenzymy AST, cytoplazmatický a mitochondriální. Za běžných podmínek je v séru jen cytoplazmatický izoenzym, zatímco mitochondriální spolu s cytoplazmatickým izoenzymem jsou detekovatelné v séru pacientů s koronárním nebo hepatobiliárním onemocněním.

Přidání pyridoxalfosfátu k metodě způsobuje zvýšení aktivity aminotransferáz. Aktivace je vyšší u AST, než u ALT. Aktivace pyridoxalfosfátem předchází falešnému snížení aktivity aminotransferázy ve vzorcích pacientů s nedostatkem endogenního pyridoxalfosfátu (deficit vitamínu B<sub>6</sub>).

**Princip testu**

Metoda dle Mezinárodní federace klinické chemie (IFCC), s pyridoxal-5'-fosfátem.<sup>3,4</sup>

AST ve vzorku katalyzuje přenos aminoskupiny mezi L-aspartátem a 2-oxoglutarátem za tvorby oxalacetátu a L-glutamátu. Oxalacetát poté reaguje s NADH v přítomnosti malátdehydrogenázy (MDH) a vytváří NAD<sup>+</sup>. Pyridoxalfosfát slouží jako koenzym při přenosu aminoskupiny v reakci. Zajišťuje úplnou aktivaci enzymů.



Rychlost oxidace NADH je přímo úměrná katalytické aktivitě AST. Stanovuje se měřením poklesu absorbance při 340 nm.

**Reagencie - pracovní roztoky**

**R1** TRIS pufr: 264 mmol/L, pH 7.8 (37 °C); L-aspartát: 792 mmol/L; MDH (mikroorganismus): ≥ 24 μkat/L; LDH (mikroorganismy): ≥ 48 μkat/L; albumin (hovězí): 0.25 %; konzervans

**SR** NADH: ≥ 1.7 mmol/L; 2-oxoglutarát: 94 mmol/L; konzervans

R1 je v pozici A a SR je v pozici B a C.

**Bezpečnostní opatření a varování**

Věnujte pozornost všem varováním a bezpečnostním opatřením uvedeným v části 1 / Úvod této Příručky metod.

Pro USA: Varování: Federální zákon omezuje prodej tohoto přístroje pouze lékařem nebo na jeho pokyn.

**Zacházení s reagensy**

Připravena k použití

**Uskladnění a stabilita**

Doba skladování při 2-8 °C

Čtěte datum expirace na štítku balení **cobas c** pack

Na palubě při použití při 10-15 °C

12 týdnů

**Odběr vzorků a příprava**

Pro odběr a přípravu vzorků používejte pouze vhodné zkumavky nebo odběrové nádoby.

Pouze níže uvedené vzorky byly testované a jsou přijatelné. Sérum: Sérum odeberte použitím standardních vzorkovacích zkumavek. Plazma: Li-heparinovaná nebo EDTA plazma. Nepoužívejte jiné antikoagulanty.

Sérum bez hemolýzy je vhodným vzorkem.

Uvedené druhy vzorků byly testované s vybranými typy odběrových zkumavek, které byly komerčně dostupné v té době, tzn., že do testu nebyly zařazeny všechny typy zkumavek všech výrobců. Systémy odběru vzorků různých výrobců mohou obsahovat různé materiály, které mohou mít v některých případech zásadní vliv na výsledky. Při zpracování vzorků v primárních zkumavkách (systémy odběru vzorků) dodržujte pokyny jejich výrobce.

Vzorky obsahující precipitáty centrifugujte před provedením stanovení.

Pro podrobnosti o možné interferenci čtěte část „Omezení a interference“.

Stabilita:<sup>5</sup> 4 dny při 20-25 °C

7 dní při 4-8 °C

3 měsíce při -20 °C

Požadavky na stabilitu vzorku byly výrobcem ustanoveny experimentálními údaji nebo na základě referenční literatury a pouze pro teploty/časové rámce uvedené v metodickém listu. Každá laboratoř je odpovědná za stanovení specifických kritérií stability pro svou laboratoř na základě dostupné literatury anebo údajů z vlastních studií.

**Dodávaný materiál**

Reagencie jsou uvedeny v části "Reagencie - pracovní roztoky".

**Potřebný materiál (ale nedodávaný se soupravou)**

Pyridoxal Phosphate, kat. č. 20764965322, systémové ID 07 6496 5  
Roztok pyridoxalfosfátu je připraven k přímému použití a je umístěn do své předdefinované pozice ve stojánku. Jedna nádobka postačuje pro 500 testů a je stabilní na palubě 8 týdnů.

**Stanovení**

Optimálního využití stanovení dosáhnete, budete-li dodržovat pokyny uvedené v dokumentaci pro příslušný analyzátor. Pokyny ke stanovení specifické pro analyzátor vyhledejte v příslušném návodu k použití.

**Aplikace pro sérum a plazmu****Definování testu**

Způsob měření	Absorbance
Způsob výpočtu abs.	Kinsearch
Způsob reakce	R1-SD*S----SR
Směr reakce	Pokles
Vlnové délky A/B	340/378 nm
Výpočet první/posl.	71/96
Jednotka	U/L

ASTPL se měří jako dlouhotrvající analytický test (trvání přibl. 17 minut).

**Pipetovací parametry**

		Diluent (H <sub>2</sub> O)
R1	40 µL	29 µL
Vzorek	11 µL	8 µL
Speciální diluent (SD)	18 µL	
SR	17 µL	9 µL
Celkový objem	132 µL	

**Kalibrace**

Kalibrátor	Calibrator f.a.s. Jako nulový kalibrátor použijte deion. vodu.
Mód kalibrace	Lineární regrese
Opakování kalibrace	Doporučuje se duplikát
Kalibrační interval	Každou šarži a jestliže to vyžaduje proces kontroly kvality

Kalibrační interval lze po přijatelné verifikaci kalibrace laboratoří prodloužit.

Návaznost: Tato metoda byla standardizovaná podle originální formulace IFCC pomocí kalibrovaných pipet na manuálním fotometru, stanovením absolutních hodnot a specifické absorptivity substrátu, ε.<sup>6</sup>

**Kontrola kvality**

Referenční rozmezí	Precinorm U plus nebo PreciControl ClinChem Multi 1
Patologické rozmezí	Precipath U plus nebo PreciControl ClinChem Multi 2
Kontrolní interval	Doporučuje se 24 hodin
Pořadí kontrol	Určeno uživatelem
Kontrola po kalibraci	Doporučena

Ke kontrole kvality použijte kontrolní materiály uvedené v části "Informace pro objednání". Navíc lze použít i jiný vhodný kontrolní materiál.

Kontrolní intervaly a meze by měly být uzpůsobeny pro každou laboratoř dle individuálních požadavků. Naměřené hodnoty by se měly pohybovat v definovaných mezích. Každá laboratoř by měla mít vypracovaná nápravná opatření pro případ, že hodnoty překročí definované meze.

Sledujte příslušná vládní nařízení a lokální směrnice kontroly kvality.

**Výpočet**

Analyzátor COBAS INTEGRA automaticky vypočítá aktivitu analytu každého vzorku. Pro více informací čtěte, prosím, „Analýza údajů“ v Online nápovědě.

Převodní faktor: U/L × 0.0167 = µkat/L

**Omezení - interference**

Kritérium: Výtěžnost v rámci ± 10 % počáteční hodnoty.

**Sérum, plazma**

Ikterus:<sup>7</sup> Bez významných interferencí do hodnoty I indexu 60 pro konjugovaný a nekonjugovaný bilirubin (přibližná koncentrace konjugovaného a nekonjugovaného bilirubinu: 1026 µmol/L nebo 60 mg/dL).

Hemolýza:<sup>7</sup> Bez významných interferencí do hodnoty H indexu 25 (přibližná koncentrace hemoglobinu: 16 µmol/L nebo 25 mg/dL).

Lipémie (Intralipid):<sup>7</sup> Bez významných interferencí do hodnoty L indexu 150. Mezi L indexem (odpovídá zákalu) a koncentrací triglyceridů je slabá korelace.

Lipemické vzorky mohou způsobit označení >Abs. Zvolte zacházení s naředěným vzorkem pro automatický rerun.

Antikoagulanty: Citrát a fluorid inhibují enzymovou aktivitu.

Léčiva: Při terapeutických koncentracích nebyla při použití běžných panelů léků zjištěna žádná interference.<sup>8,9</sup> Výjimky: Dobesilát vápenatý a doxycyklin HCl způsobují umělé nízké hodnoty AST při testování hladinách léčiv. Hydroxokobalamin (Cyanokit) může způsobit falešně nízké výsledky. Fyziologické koncentrace sulfasalazinu nebo sulfapyridinu v plazmě mohou vést k nesprávným výsledkům.

Ve vzácných případech může gamapatie, především u typu IgM (Waldenströmova makroglobulinémie), způsobit nespolehlivé výsledky.<sup>10</sup>

Pro diagnostické účely je vždy nezbytné používat výsledky ve spojení s anamnestickými údaji pacienta, klinickým vyšetřením a jinými nálezy.

**POTŘEBNÝ KROK**

**Programování speciálního mytí:** Při zpracovávání určitých kombinací testů na analyzátoch COBAS INTEGRA je použití speciálních mycích cyklů povinné. Pro další pokyny a pro nejnovější verzi seznamu Extra mycích cyklů čtěte, prosím, metodický list CLEAN.

**Tam, kde se to vyžaduje, musí být před vykazováním výsledků provedeno programování speciálního mytí/zamezení přenosu mezi vzorky (carry-over).**

**Meze a rozmezí****Měřicí rozsah**

2-700 U/L (0.03-11.7 µkat/L)

Vzorky s vyššími koncentracemi stanovte použitím funkce rerun. Vzorky ředíme 1:10 pomocí funkce rerun. Výsledky ze vzorků naředěných funkcí rerun jsou automaticky vynásobené faktorem 10.

**Dolní meze měření**

Mez detekce testu:

2 U/L (0.03 µkat/L)

Mez detekce představuje nejnižší měřitelnou hladinu analytu, kterou lze odlišit od nuly. Počítá se jako hodnota ležící 3 standardní odchylky od nulového vzorku (nulový vzorek + 3 SD, opakovatelnost, n = 30).

**Očekávané hodnoty**

podle IFCC/Standard Method 94 s aktivací pyridoxalfosfátem při 37 °C:<sup>11</sup>

Muži 10-50 U/L (0.17-0.83 µkat/L)

Ženy 10-35 U/L (0.17-0.58 µkat/L)

Konsenzuální hodnoty s aktivací pyridoxalfosfátem:<sup>12</sup>

Muži až do 50 U/L (0.83 µkat/L)

Ženy až do 35 U/L (0.58 µkat/L)

**Aspartátaminotransferáza - aktivovaná pyridoxalfosfátem**

Každá laboratoř by si měla prověřit převoditelnost očekávaných hodnot na svou populaci pacientů, a je-li to nutné, stanovit si vlastní referenční rozmezí.

**Specifické údaje o využití**

Reprezentativní údaje o využití pro analyzátoř COBAS INTEGRA jsou uvedeny níže. Výsledky získané v různých laboratořích se mohou lišit.

**Preciznost**

Preciznost byla měřena použitím lidských vzorků a kontrol podle interního postupu s opakovatelností a mezilehlou precizností (2 alikvoty na sérii, 2 série denně, 20 dní). Byly získány následující výsledky.

	Hladina 1	Hladina 2
Průměr	48,3 U/L (0,807 µkat/L)	162 U/L (2,69 µkat/L)
VK opakovatelnost	2,6 %	1,8 %
VK mezilehlá preciznost	2,9 %	2,0 %

**Porovnání metod**

Hodnoty AST pro vzorky lidského séra a plazmy, získané na analyzátoř COBAS INTEGRA 700 použitím reagentie COBAS INTEGRA Aspartát Aminotransferase (ASTL) a pyridoxalfosfátu jako speciálního diluentu (y), byly porovnány s výsledky naměřenými komerčně dostupnými reagentiemi pro AST (s pyridoxalfosfátem) na analyzátoř COBAS INTEGRA (x) a systému klinické chemie alternativního výrobce (z). Vzorky byly měřeny v duplikátu. Počet (n) představuje všechny replikáty.

	Analýzátoř COBAS INTEGRA	Alternativní systém
Počet vzorků (n)	232	212
Korel. koeficient (r)	0,999	0,999
(r <sub>s</sub> )	0,998	0,997
Lin. regrese	y = 1,056x - 2,16 U/L	y = 1,02x + 0,93 U/L
Passing/Bablok <sup>13</sup>	y = 1,034x - 1,04 U/L	y = 1,016x + 1,05 U/L

Aktivity vzorků byly v rozmezí 12,7 až 604 U/L (0,212 až 10,1 µkat/L).

**Odkazy**

- 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.
- 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.
- 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.
- Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. WHO Publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev. 2: Jan 2002.
- 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.
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.
- Breuer J. Report on the Symposium "Drug effects in Clinical Chemistry Methods". Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.
- 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.

- Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007;45(9):1240-1243.
- Klauke R, Schmidt E, Lorentz K. Recommendations for carrying out standard ECCLS procedures (1988) for the catalytic concentrations of creatine kinase, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and γ-glutamyltransferase at 37 °C. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1993;31:901-909.
- Thomas L, Müller M, Schumann G, et al. Consensus of DGKL and VDGH for interim reference intervals on enzymes in serum. J Lab Med 2005;29(5):301-308.
- 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.

Tečka se v tomto metodickém listu vždy používá jako desetinný oddělovač k označení hranice mezi celými a desetinnými místy desetinného čísla. Oddělení tisíců se nepoužívá.

**Symboly**

Roche Diagnostics používá kromě symbolů a znaků uvedených v normě ISO 15223-1 následující znaky (pro USA: pro definici použitých symbolů navštivte stránku <https://usdiagnostics.roche.com>):

**CONTENT**

Obsah soupravy



Objem po rekonstituci nebo promíchání

**GTIN**

Globální číslo obchodní položky

Doplnění, odstranění nebo změny textu jsou označeny pruhem podél textu.

© 2019, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim  
[www.roche.com](http://www.roche.com)

Distribuce v USA:  
Roche Diagnostics, Indianapolis, IN  
Zákaznická podpora v 1-800-428-2336

