

REF 10206-4 4 X 31 mL / 7 mL

## AMINOTRANSFERAZA ASPARAGINIANOWA (AST)

Każdy z pojemników zawiera 31 mL odczynnika R1. Buteleczka 10 mL zawiera 7 mL odczynnika R2.

### Zastosowanie

Odczynnik AST EasyRA służy do ilościowego pomiaru enzymu aminotransferazy asparaginianowej w surowicy i osoczu ludzkim (przy użyciu heparyny litowej jako środka przeciwkrzepliwego) przy wykorzystaniu analizatora MEDICA EasyRA® Clinical Chemistry Analyzer. Pomiar aminotransferazy asparaginianowej są wykorzystywane w diagnostyce i leczeniu niektórych chorób wątroby i serca. Wyłącznie do diagnostycznego stosowania *in vitro*. Wyłącznie do użytku profesjonalnego.

### OPIS I OBJAŚNIENIE

Aminotransferaza asparaginianowa jest enzymem występującym głównie w wątrobie, sercu, czerwonych ciałkach krwi i tkankach mięśniowych<sup>1</sup>. Uszkodzenie komórek w tych tkankach prowadzi do wzrostu stężenia AST w surowicy, proporcjonalnie do rozległości uszkodzeń. Poziom stężenia AST jest również znacząco wyższy u pacjentów z wirusowym zapaleniem wątroby i marskością wątroby oraz zawałem mięśnia sercowego<sup>2,3</sup>.

### ZASADY PROCEDURY

Test opiera się o serię opisanych poniżej reakcji. W pierwszej kolejności enzym AST katalizuje transfer grupy asparaginianowej do  $\alpha$ -ketoglutaranu ( $\alpha$ -KG), w wyniku czego powstaje L-glutaminian i szczawiooctan (OAA).

#### AST

L-asparaginian +  $\alpha$ -KG  $\rightarrow$  OAA + L-glutaminian

OAA zostaje następnie zredukowany do jabłczanu poprzez reakcję z NADH katalizowaną przez dehydrogenazę jabłczanową (MDH).

#### MDH

OAA + NADH + H<sup>+</sup>  $\rightarrow$  Jabłczan + NAD<sup>+</sup>

W drugiej reakcji ilość NADH utleniana do NAD prowadzi do zmniejszenia absorbancji przy 340 nm. Spadek ten jest śledzony spektrofotometrycznie i jest wprost proporcjonalny do aktywności AST w surowicy. Dehydrogenaza mleczanowa (LDH) została włączona do odczynnika, aby szybko redukować pirogroniany obecne w surowicy i zminimalizować interferencję z oznaczaniem. Metoda została pierwotnie opracowana przez Karmena<sup>4,5</sup> i zoptymalizowana przez Bergmeyer i in<sup>6</sup>. Metodologia oznaczeń AST EasyRA została oparta o metodę zalecaną przez IFCC<sup>7</sup>.

### Odczynniki

#### Odczynnik buforowy AST (R1):

|                            |            |
|----------------------------|------------|
| Bufor Tris, pH 7,50 (30°C) | 80 mmol/l  |
| L-asparaginian             | 240 mmol/l |
| LDH (mikroorganizm)        | 600 U/l    |
| MDH (mięśnie wieprzowe)    | 600 U/l    |

#### Odczynnik substratu AST (R2):

|                        |             |
|------------------------|-------------|
| $\alpha$ -ketoglutaran | 12 mmol/l   |
| NADH (sól dwusodowa)   | 0,18 mmol/l |

### ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Podczas używania dowolnego odczynnika laboratoryjnego należy przestrzegać dobrych praktyk bezpieczeństwa. (CLSI, GP17-A2).
- Odczynniki zawierają mniej niż 0,1% azydku sodu, który może wejść w reakcję z przewodami ołowianymi lub miedzianymi, tworząc azydki metali o silnych właściwościach wybuchowych. Informacje na temat ryzyka, zagrożeń i bezpieczeństwa znajdują się w arkuszu. Dane bezpieczeństwa.
- Tak jak w przypadku wszystkich procedur diagnostycznych, wyniki powinny zostać zinterpretowane z uwzględnieniem wyników wszelkich innych badań i statusu klinicznego pacjenta.
- Nie używać mytych kuwet.

### -INSTRUKCJE DOTYCZĄCE UŻYCIA, PRZECHOWYWANIA I STABILNOŚCI ODCZYNNIKA

Odczynniki R1 i R2 muszą zostać połączone w pojemniku przed użyciem. Nietzwarte odczynniki pozostają stabilne, aż do upływu daty ważności (na etykiecie), jeśli są przechowywane w temp. 2 – 8°C. Odczynnik aktywny pozostaje stabilny w komorze chłodniczej odczynników analizatora EasyRA przez ilość dni zaprogramowaną w module RFID na pojemniku odczynnika. Nie używać odczynnika, jeśli jest mętny lub zanieczyszczony, lub jeśli wskazuje błędne wartości podczas porównania ze znanymi wartościami kontrolnymi.

## POBIERANIE I PRZECHOWYWANIE/STABILNOŚĆ PRÓBEK

Do pobierania osocza można wykorzystywać próbki zawierające heparynę litową. Należy używać czystych, niehemolizowanych próbek. AST w surowicy zachowuje stabilność do 7 dni w temperaturze 2 – 8°C<sup>8</sup>.

### Ograniczenia

Należy koniecznie unikać hemolizy, gdyż stężenie AST w czerwonych krwinkach jest ok. 10 razy większe, niż w surowicy<sup>9</sup>. Hemolizowane próbki zawierające  $\geq 250$  mg/dL hemoglobiny mogą zwiększyć wartości AST o 6 U/l lub więcej.

## PROCEDURA

### Dostarczone materiały

Pojemnik/butelka z R2 odczynnika Medica AST (Medica AST Reagent Wedge/R2 Bottle), NR REF. 10206

### Wymagane materiały dodatkowe

Medica EasyQC® Chemisty/Electrolytes – Poziom A, NR REF 10793

Medica EasyQC Chemisty/Electrolytes – Poziom B, NR REF 10794

Pojemnik z barwnikiem do testu precyzji Medica (Medica Precision Test Dye Wedge), NR REF. 10764

Pojemnik ze środkiem czyszczącym Medica (Medica Cleaner Wedge – Chemistry & ISE Wedge), NR REF. 10660 lub

Pojemnik ze środkiem czyszczącym Medica (Medica Cleaner Wedge – Chemistry), NR REF. 10661

### Sposób użycia

Odczynniki R1 i R2 muszą zostać połączone w pojemniku przed użyciem. Odczynnik R1 znajduje się w pojemniku. Dodać całą zawartość buteleczki zawierającej odczynnik R2 do pojemnika i dobrze wymieszać przez inwersję przed użyciem. Po wymieszaniu powstanie łącznie 38 mL aktywnego odczynnika. Zdjąć korek z aktywnego odczynnika i umieścić odczynnik na tacy odczynników analizatora Medica EasyRA znajdującej się na obszarze odczynników. Stabilność podczas przechowywania (maksymalnie 44 dni) w systemie programowana jest w układzie RFID na pojemniku odczynnika.

**Uwaga:** Przed umieszczeniem pojemnika w analizatorze sprawdzić, czy po zdjęciu korka wewnątrz szyjki pojemnika nie wytworzyła się piana. Jeśli pojawiła się piana, usunąć ją wacikiem lub jednorazową pipetką przed przeprowadzeniem badania.

### Kalibracja

Nie dotyczy.

### Kontrola jakości

Zaleca się przeprowadzanie kontroli jakości badania surowicy ludzkiej na dwóch poziomach (normalnym i abnormalnym) codziennie przy każdym badaniu pacjenta oraz po każdorazowej zmianie partii odczynników. Problemy z uzyskaniem odpowiedniego zakresu wartości podczas oznaczania materiału kontrolnego mogą wskazywać na degradację odczynnika, usterkę instrumentu lub błędy proceduralne. Podczas korzystania z materiałów kontroli jakości w laboratorium należy stosować lokalne, stanowe i federalne wytyczne kontroli jakości.

### Wyniki

Po zakończeniu oznaczania analizator EasyRA oblicza stężenie AST na podstawie zanotowanej zmiany absorbancji na minutę, objętości próbki, całkowitej objętości reakcji, długości ścieżki (cm) równej 0,6 i absorpcyjności molowej równej 6,22.

$$\text{AST (U/l)} = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{Całkowita objętość}(\mu\text{l}) \times 1000)}{(\text{Absorpcyjność molowa} \times \text{Długość ścieżki}(\text{cm}) \times \text{Objętość próbki}(\mu\text{l}))}$$

Wartość U/l aktywności AST to ilość enzymu, która utlenia jeden  $\mu\text{mol/l}$  NADH na minutę.

### Przewidywane wartości<sup>10</sup>

Zakres referencyjny dla AST w surowicy jest następujący:

Zakres normalny: 8 – 40 U/l (37°C)

Wartości te stanowią wytyczne. Zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło własny zakres wartości przewidywanych, gdyż istnieją różnice pomiędzy instrumentami, laboratoriami oraz mieszkańcami różnych regionów.

### Ograniczenia proceduralne (np. w przypadku wykroczenia próbki poza zakres oznaczania)

Należy używać wyłącznie próbek niehemolizowanych. Unikać używania zmętniałych próbek.

Jeśli zmiana absorbancji na minutę ( $\Delta A/\text{Min}$ ) przekracza 0,026, co odpowiada 400 U/l, analizator oznaczy wyniki jako „SD” (wyczerpanie substratu). Zmiany absorbancji na minutę powyżej tej wartości wykraczają poza zakres liniowy testu. W przypadku wybrania ikony „Re-run” (Uruchom ponownie), próbka może zostać ponownie zbadana przy użyciu połowy (1/2) objętości próbki. Wyniki ponownej analizy zostają obliczone z uwzględnieniem zmniejszonej objętości próbki. Spowoduje to rozszerzenie raportowanego zakresu oznaczania AST do 800 U/l.

## CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCI<sup>11</sup>

### Zakres raportowany

Raportowany zakres wynosi od 5,5 do 400 U/l. Zakres rozszerzony wynosi od 5,5 do 800 U/l przy użyciu połowy próbki (roztwór 1:1).

### Niedokładność/korelacja (CLSI, EP9-A2)

Poniższa tabela zawiera wyniki porównania nowego odczynnika aminotransferazy asparaginianowej Medica (Medica Reagent for AST) (y) w analizatorze EasyRA (y) z poprzednim odczynnikiem AST Medica (x) w analizatorze EasyRa. Przedstawione dane to wyniki dla pojedynczych oznaczeń wykonanych przy użyciu nowego odczynnika AST Medica na analizatorze EasyRA w porównaniu ze średnią z dwóch powielanych wartości uzyskanych dla poprzedniego odczynnika AST Medica na analizatorze EasyRa.

|                        |        |                    |                         |
|------------------------|--------|--------------------|-------------------------|
| Ilość próbek           | 80     | Zakres próbek      | –od 10,3 do 389,5 U/l   |
| Nachylenie             | 1,0203 | Wychwytywanie y    | -1,183                  |
| Współczynnik korelacji | 0,9997 | Równanie regresji: | $Y = 1,0203XX + -1,183$ |

Poniższa tabela zawiera wyniki porównania odpowiadających sobie próbek surowicy (x) i osocza (y) przy wykorzystaniu odczynnika AST Medica w analizatorze chemicznym Medica EasyRA. Poniższe dane to wyniki dla pojedynczego oznaczenia osocza w porównaniu ze średnią wyznaczoną dla dwóch powielanych wartości surowicy.

|                        |        |                   |                         |
|------------------------|--------|-------------------|-------------------------|
| Ilość próbek           | 60     | Zakres próbek     | od 10,6 do 340,4 U/L    |
| Nachylenie             | 0,9902 | Wychwytywanie y   | 0,3133                  |
| Współczynnik korelacji | 0,9988 | Równanie regresji | $Y = 0,9902*X + 0,3133$ |

### Niedokładność (CLSI, EP5-A2)

Podwójne pomiary każdego z trzech poziomów materiałów do kontroli jakości były testowane dwa razy dziennie przez 20 dni. Dane te posłużyły do ustalenia zarówno dokładności wewnątrz przebiegu, jak i całkowitej.

Niedokładność wewnątrz przebiegu:

| Poz. kontr. jakości<br>U/l | SD wewn. przebiegu<br>U/l | CV wewn. przebiegu<br>% |
|----------------------------|---------------------------|-------------------------|
| 234,9                      | 1,76                      | 0,75                    |
| 102,8                      | 0,82                      | 0,79                    |
| 37,8                       | 1,08                      | 2,86                    |

Niedokładność całkowita:

| Poz. kontr. jakości<br>U/l | SD niedokł. całkowita<br>U/l | CV niedokł. całkowita<br>% |
|----------------------------|------------------------------|----------------------------|
| 234,9                      | 1,97                         | 0,84                       |
| 102,8                      | 1,14                         | 1,11                       |
| 37,8                       | 1,23                         | 3,25                       |

### Liniowość (CLSI, EP6-A)

Liniowe od 5,5 do 400 U/l, na podstawie regresji liniowej  $Y = 0,9975*X + 0,0049$ .

|                             |         |                |
|-----------------------------|---------|----------------|
| Granica próby ślepej (LOB): | 3,1 U/l | (CLSI, EP17-A) |
| Granica wykrywania (LOD):   | 4,1 U/l | (CLSI, EP17-A) |

### Interferencja (CLSI, EP7-A)

Interferencja poniżej 10% została sklasyfikowana jako „brak znaczącej interferencji”.

Zanotowano znaczną interferencję z hemolizą. Należy koniecznie unikać hemolizy, gdyż stężenie AST w czerwonych krwinkach jest ok. 10 razy większe, niż w surowicy<sup>9</sup>. Nie używać próbek hemolizowanych.

Brak znaczącej interferencji zanotowano dla bilirubiny na poziomie poniżej 28 mg/dL.

Nie odnotowano znaczącej interferencji dla trójglicerydów na poziomie poniżej 1500 mg/DL (przy wykorzystaniu środka Intralipid\*)

*\*Intralipid jest zarejestrowanym znakiem towarowym Pharmacia AB, Clayton, NC.*

Young przedstawia listę leków i innych substancji będących przyczyną interferencji w klinicznych testach chemicznych<sup>12, 13</sup>.

## LITERATURA

- 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 Demetriou JA et al. *In Clinical Chemistry – Principles and Technics*, 2<sup>nd</sup> ed. RJ Henry et al. Eds. Harper & Row, Hagerstown, MD 1974, p 873.
- 10 Tietz NW, ed. *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1995: 76.
- 11 Dane własne Medica.
- 12 Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*, 2nd ed. Washington, DC. AACC Press; 1997.
- 13 Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995.

## Parametry oznaczania EasyRA (AST)

|   |                  |
|---|------------------|
| Długość fali (nm)                       | 340/405 nm       |
| Typ reakcji                             | Enzymatyczna (0) |
| Kierunek odczynnika                     | Malejący         |
| Odczynnik ślepy                         | Nie              |
| Próba ślepa                             | Nie              |
| Maks. zmiana abs. w pierwszym okr.      | 0,026            |
| Czas reakcji                            | 7,2 min.         |
| Odstęp między kalibracjami (maksymalny) | Nie dotyczy      |
| Stabilność odczynnika w systemie        | 44 dni           |

## Surowica/osocze

|                                  |   |
|----------------------------------|---|
| Obj. próbki (μl)                 | 8   |
| Obj. rozcieńczalnika (μl)        | 32  |
| Obj. odczynnika (μl)             | 144                                       |
| Miejsca po przecinku (domyślnie) | 1   |
| Jednostki (wartości domyślne)    | U/l                                       |
| Współczynnik rozcieńczenia       | 1:1 (w celu rozszerzenia zakresu pomiaru) |
| Liniowość                        | 5,5 – 400 U/l                             |
| Absorpcyjność molowa             | 6,22                                      |

