

REF 10206-4 4 X 28 mL / 10 mL

AMINOTRANSFERAZA ASPARAGINIANOWA (AST)

Każdy pojemnik zawiera 28 mL odczynnika R1. Buteleczka 10 mL zawiera 10 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 klinicznego analizatora chemicznego MEDICA EasyRA®. Pomiar aminotransferazy asparaginianowej są wykorzystywane w diagnostyce i leczeniu niektórych chorób wątroby i serca. 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 mięśniowych¹. 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^{2,3}.

ZASADY PROCEDURY

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

AST

L-asparaginian + α -KG → OAA + L-glutaminian

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

MDH

OAA + NADH + H⁺ → Jabłczan + NAD⁺

W drugiej reakcji ilość NADH utleniana do NAD prowadzi do zmniejszenia absorbancji przy 340 nm. Spadek ten jest śladowy 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^{4,5} i zoptymalizowana przez Bergmeyer i in⁶. Metodologia oznaczeń AST EasyRA została oparta o metodę zalecaną przez IFCC⁷.

ODCZYNNIKI

Odczynnik buforowy AST (R1):

Bufor Tris, pH 7,65 (30°C)	110 mmol/L
L-asparaginian	320 mmol/L
LDH (mikroorganizm)	≥ 1200 U/L
MDH (mięśnie wieprzowe)	≥ 800 U/L

Odczynnik substratu AST (R2):

α -ketoglutaran	85 mmol/L
NADH (sól dwusodowa)	1 mmol/L

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Podczas używania dowolnego odczynnika laboratoryjnego należy przestrzegać dobrych praktyk bezpieczeństwa. (CLSI, GP17-A3).
- 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. Nietowarte odczynniki pozostają stabilne, aż do upływu daty ważności (na etykiecie), jeśli są przechowywane w temp. 2 – 8°C. Odczynnik aktywny pozostaje stabilny w komorze klinicznego analizatora chemicznego 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. Chronić przed światłem.

POBIERANIE I PRZECHOWYWANIE/STABILNOŚĆ PRÓBEK

Do pobierania osocza można wykorzystywać probówki zawierające heparynę litową. Należy używać czystych, niezhemolizowanych próbek. AST w surowicy lub osoczu zachowuje stabilność do 7 dni w temperaturze 2 – 8°C.^{8,9}

Ograniczenia

Należy koniecznie unikać hemolizy, gdyż stężenie AST w czerwonych krwinkach jest ok. 10 razy większe, niż w surowicy.¹⁰ Hemolizowane próbki zawierające ≥ 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. 10206-4

Wymagane materiały dodatkowe

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

Medica EasyQC® Chemistry/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 klinicznego analizatora chemicznego 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 kliniczny analizator chemiczny 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.

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

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

PRZEWIDYWANE WARTOŚCI¹¹

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 niezhemolizowanych. Unikać używania zmętniałych próbek.

Jeśli zmiana absorbancji na minutę ($\Delta A/\text{Min}$) przekracza 0,0643, 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 WYDAJNOŚCI¹²

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, EP09-A2)

Poniższa tabela zawiera wyniki porównania nowego odczynnika aminotransferazy asparaginianowej Medica (Medica Reagent for AST) (y) w klinicznym analizatorze chemicznym EasyRA (y) z poprzednim odczynnikiem AST Medica (x) w klinicznym analizatorze chemicznym EasyRa. Przedstawione dane to wyniki dla pojedynczych oznaczeń wykonanych przy użyciu nowego odczynnika AST Medica na klinicznym analizatorze chemicznym EasyRA w porównaniu ze średnią z dwóch powielanych wartości uzyskanych dla poprzedniego odczynnika AST Medica na klinicznym analizatorze chemicznym 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:	$Y = 1,0203 * X - 1,183$

Poniższa tabela zawiera wyniki porównania odpowiadających sobie próbek surowicy (x) i osocza (y) przy wykorzystaniu odczynnika AST Medica w klinicznym 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, EP05-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 U/L	SD wewn. przebiegu U/L	CV wewn. przebiegu %
234,9	1,76	0,75
102,8	0,82	0,79
37,8	1,08	2,86

Niedokładność całkowita:

Poz. kontr. jakości U/L	SD niedokł. całkowita U/L	CV niedokł. całkowita %
234,9	1,97	0,84
102,8	1,14	1,11
37,8	1,23	3,25

Liniiowość (CLSI, EP06)

Liniiowe 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, EP07)

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 surowicy⁹. 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*).

Nie odnotowano znaczącej interferencji dla kwasu askorbinowego na poziomie powyżej 30 mg/dL.

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

Young przedstawia listę leków i innych substancji będących przyczyną interferencji w klinicznych testach chemicznych^{13, 14}.

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 Guder WG, Zawta B et al. *The Quality of Diagnostic Samples*. 1st ed. Darmstadt: GIT; 2001;p. 18-19.
- 10 Demetriou JA et al. *In Clinical Chemistry – Principles and Technics*, 2nd ed. RJ Henry et al. Eds. Harper & Row, Hagerstown, MD 1974, p 873.
- 11 Tietz NW, ed. *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1995: 76.
- 12 Dane własne Medica.
- 13 Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*, 2nd ed. Washington, DC. AACC Press; 1997.
- 14 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