

REF 10206-4 4 X 28 ML / 10 ML

## ASPARTAT AMİNOTRANSFERAZ (AST)

Her bir veç kullanılabilir 28 ml R1 reaktifi, 10 mL'lik şişelerse 10 ml R2 reaktifi içerir.

### KULLANIM AMACI

EasyRA AST reaktifi, MEDICA EasyRA® clinical chemistry analyzer cihazını kullanarak insan serum ve plazmasındaki (antikoagülan olarak lityum heparin içerir) aspartat aminotransferaz enziminin (CO<sub>2</sub>) kantitatif tayini içindir. Aspartat Aminotransferaz ölçümleri belirli karaciğer ve kalp hastalıklarının teşhis ve tedavisinde kullanılır.

*In vitro* teşhis amaçlı kullanım içindir. Yalnızca profesyonel kullanım içindir.

### ÖZET VE AÇIKLAMA

Aspartat aminotransferaz esasen karaciğer, kalp, alyuvarlar ve kas dokusunda bulunan bir enzimdir.<sup>1</sup> Bu dokuların hücrelerindeki hasar, serum içinde hasarla orantılı AST bulunmasına neden olur. AST düzeyi ayrıca viral hepatit ve siroz bulunan hastalar ile miyokard enfarktüsü vakalarında belirgin oranda yükselir.<sup>2, 3</sup>

### PROSEDÜRÜN İLKELERİ

Miktar tayini aşağıda anlatılan bir dizi reaksiyona dayanmaktadır. AST enzimi, önce Aspartat amino grubunun L-glutamat ve oksaloasetat (OAA) oluşumu ile α-Ketoglutarata (α -KG) aktarımını katalize eder.

AST

L-Aspartat + α -KG → OAA + L-Glutamat

OAA daha sonra, malat dehidrojenaz (MDH) ile katalize edilen bir reaksiyonda NADH ile L-malata indirgenir.

MDH

OAA + NADH + H<sup>+</sup> → L-Malat + NAD<sup>+</sup>

Bu ikinci reaksiyonda NAD<sup>+</sup>'ye oksitlenen NADH miktarı, 340 nm'deki absorbansta bir azalmaya neden olur. Bu azalma spektrofotometrik olarak izlenir ve serumdaki AST etkinliği ile doğru orantılıdır. Miktar tayini ile etkileşimi en aza indirmek amacıyla, serumdaki herhangi bir piruvat varlığını hızla indirmek üzere reaktife laktat dehidrojenaz (LDH) dahil edilir. İlk yöntem Karmen<sup>4, 5</sup> tarafından geliştirilmiş ve Bergmeyer ve ark.<sup>6</sup> tarafından optimize edilmiştir. EasyRA AST miktar tayini metodolojisi IFCC'nin önerilen yöntemini temel almaktadır.<sup>7</sup>

### REAKTİFLER

#### AST Tampon Reaktifi (R1):

Tris tamponu, pH 7,65 (30°C)	110 mmol/L
L-Aspartat	320 mmol/L
LDH (mikroorganizma)	≥1200 U/L
MDH (domuz kası)	≥800 U/L

#### AST Substrat Reaktifi (R2):

α-Ketoglutarat	85 mmol/L
NADH (Disodyum tuzu)	1 mmol/L

### ÖNLEMLER

- Her türlü laboratuvar reaktifi ile işlem yaparken iyi laboratuvar güvenlik uygulamaları izlenmelidir. (CLSI, GP17-A3).
- Reaktifler en fazla %0,1 sodyum azit içermekte olup, sodyum azit kurşun ve bakır boru tesisatı ile reaksiyona girerek son derece patlayıcı olan metal azitler oluşturabilir. Risk, tehlike ve güvenlik bilgileri için Madde Güvenliği Veri Sayfası'na bakın.
- Her teşhis amaçlı test prosedürü gibi, sonuçlar diğer tüm test sonuçları ile hastanın klinik durumu göz önünde bulundurularak yorumlanmalıdır.
- Yıkamış küvetler kullanmayın.

### REAKTİF İŞLEME, SAKLAMA VE STABİLİTESİ İLE İLGİLİ TALİMATLAR

R1 ve R2 reaktifleri kullanılmadan önce veç içinde bir araya getirilmelidir. Açılmamış reaktifler, 2 – 8°C sıcaklıkta saklandığında etiket üzerindeki son kullanma tarihine kadar stabildir. Çalışma reaktifi, EasyRA clinical chemistry analyzer'da reaktif veçi üstündeki RFID yongasında programlanmış gün sayısı kadar stabildir. Bulanık ya da bilinen serum kontrol değerlerini veremiyorsa reaktifi kullanmayın. Işıktan koruyun.

## NUMUNE ALMA VE SAKLAMA/STABİLİTE

Plazma alma işlemi için lityum heparin kaplı tüpler kullanılabilir. Temiz, hemolize olmayan numuneler kullanılmalıdır. AST, serum veya plazmada 2 – 8°C'de 7 güne kadar stabildir.<sup>8,9</sup>

### Sınırlamalar

Alyuvarlardaki AST konsantrasyonu serumunkinden yaklaşık 10 kat fazla olduğundan hemolizden kaçınılmalıdır.<sup>10</sup> ≥250 mg/dL'nin üstünde hemoglobin içeren hemolize numuneleri, AST değerlerini 6 U/L ya da daha fazla yükseltebilir.

## PROSEDÜR

### Sağlanan Maddeler

Medica AST Reaktif Veçi/R2 Şişesi, REF 10206-4

### Gerekli Ek Maddeler

Medica EasyQC® Chemistry/Electrolytes – Düzey A, REF 10793

Medica EasyQC® Chemistry/Electrolytes – Düzey B, REF 10794

Medica Hassas Test için Kuru Veç, REF 10764

Medica Temizleme Veçi – Kimya & ISE, REF 10660 veya

Medica Temizleme Veçi – Kimya, REF 10661

### Kullanım Talimatları

R1 ve R2 reaktifleri kullanılmadan önce veç içinde bir araya getirilmelidir. R1 reaktif veç içindedir. R2 reaktifini içeren küçük şişenin tüm içeriğini veç içine ekleyin ve kullanmadan önce ters düz ederek iyice karıştırın. Karıştırma işleminden sonra toplam 38 mL kullanılabilir çalışma reaktif olacaktır. Çalışma reaktifinden kapağı çıkarın ve reaktif EasyRA clinical chemistry analyzer içinde reaktif alanına yerleştirilmiş reaktif tepsisine koyun. Çalışma reaktifinin yerleşik stabilitesi (maksimum 44 gün) reaktif veçi üstündeki RFID yongasında programlanmıştır.

**Not:** Kapağı açtıktan ve veçi analiz cihazına yerleştirdikten sonra veç boyununun iç tarafında köpük olup olmadığını kontrol edin. Köpük varsa, testi gerçekleştirmeden önce bir pamuklu çubuk ya veya tek kullanımlık bir pipet ile köpüğü temizleyin.

### Kalibrasyon

Geçerli değildir.

### Kalite Kontrol

Miktar tayininde hasta testi her gerçekleştirildiğinde günlük olarak ve her reaktif lotu değişiminde iki düzey insan serum tabanlı kontrol (normal ve anormal) yapılması önerilir. Kontrol maddesinin miktar tayininde doğru değer aralığının elde edilememesi reaktif bozulması, donanım arızası ya da prosedür hatasını gösteriyor olabilir. Laboratuvar, kalite kontrol maddelerini kullanırken yerel, genel ve bölgesel kalite kontrol kurallarını izlemelidir.

### Sonuçlar

Miktar tayinini tamamladıktan sonra, EasyRA clinical chemistry analyzer dakika başına absorbans değişimi, numune hacmi, toplam reaksiyon hacmi, 0,6'lık (cm) yol uzunluğu ve 6,22'lik molar absorptiviteden AST konsantrasyonunu hesaplar.

$$\text{AST (U/L)} = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{Toplam Hacim (ul)} \times 1000)}{(\text{Molar Absorptivite} \times \text{Yol uzunluğu (cm)} \times \text{numune hacmi (ul)})}$$

AST etkinliğinin U/L değeri, dakikada bir  $\mu\text{mol/L}$  NADH oksitleyen enzim miktarıdır.

### BEKLENEN DEĞERLER<sup>11</sup>

Serumdaki AST için referans aralığı aşağıdaki gibidir:

Normal: 8-40 U/L (37°C)

Bu değerler kılavuz ilkelerdir. Donanımlar, laboratuvarlar ve yerel nüfus arasında farklılıklar oluşacağı için her laboratuvarın kendi beklenen değer aralığını oluşturması önerilir.

### Prosedür Sınırları (örneğin, numune miktar tayini aralığının üstündeyse)

Yalnızca hemolize olmayan numuneler kullanılmalıdır. Gözle görülür biçimde bulanık numuneleri kullanmayın.

Dakika Başına Absorbans değişimi ( $\Delta A/\text{Min}$ ) 0,0643'ten (400 U/L'ye denk gelir) büyükse, sonuçlar analiz cihazı tarafından "SD" (substrat boşalması) olarak işaretlenecektir. Bu oranın üstündeki absorbans değişimleri testin doğrusal aralığının üstündedir. Operatör tarafından "Yeniden çalıştır" simgesi seçilmişse, numune, yarım (1/2) numune hacmi kullanılarak yeniden test edilebilir. Yeniden test sonuçları daha küçük numune hacminin kullanımını yansıtacak şekilde hesaplanır. Bu, AST testinin rapor edilebilir aralığını 800 U/L'ye kadar uzatır.

## PERFORMANS ÖZELLİKLERİ<sup>12</sup>

### Rapor Edilebilir Aralık

Rapor edilebilir aralık 5,5 ile 400 U/L arasındadır. Numunenin yarısı kullanıldığında uzatılmış aralık 5,5 ile 800 u/l'dir (1:1 seyreltme).

### Yanılışlık/Korelasyon (CLSI, EP09-A2)

Aşağıdaki tabloda EasyRA clinical chemistry analyzer'daki yeni Medica AST reaktifinin (y) EasyRA clinical chemistry analyzer'daki önceki Medica AST reaktifinin (x) performansı ile karşılaştırmasından elde edilen veriler yer almaktadır. Aşağıda gösterilen veriler, EasyRA clinical chemistry analyzer'da önceki Medica AST reaktifıyla elde edilen iki kopya değerinin ortalamasına karşın EasyRA clinical chemistry analyzer'da yeni Medica AST reaktifıyla elde edilen tekli tayinleri temsil etmektedir.

Numune sayısı	80	Numune Aralığı	10,3 ila 389,5 U/L
Eğim	1,0203	y Keseni	-1,183
Korelasyon Katsayısı	0,9997	Regresyon Denklemi	Y = 1,0203*X -1,183

Aşağıdaki tabloda EasyRA clinical chemistry analyzer'da Medica AST reaktifi kullanılarak, eşleştirilen serum (x) ve plazma (y) numunelerinin karşılaştırmasından elde edilen veriler yer almaktadır. Aşağıdaki veriler, iki kopya serum değerinin ortalamasına karşın tekli plazma tayinini temsil etmektedir.

Numune Sayısı	60	Numune Aralığı	10,6 ila 340,4 U/L
Eğim	0,9902	y Keseni	0,3133
Korelasyon Katsayısı	0,9988	Regresyon Denklemi	Y = 0,9902*X + 0,3133

### Muğlaklık (CLSI, EP05-A2)

KK maddesinin üç düzeyinin her birinin iki kopya ölçümü 20 gün boyunca günde iki kez test edilmiştir. Bu verilen için hem çalışma içi hassasiyet hem de toplam hassasiyet belirlenmiştir.

Çalışma içi hassasiyet:

KK Düzeyi	Çalışma İçi SD	Çalışma İçi CV
U/L	U/L	%
234,9	1,76	0,75
102,8	0,82	0,79
37,8	1,08	2,86

Toplam Muğlaklık:

KK Düzeyi	Toplam Muğlaklık SD	Toplam Muğlaklık CV
U/L	U/L	%
234,9	1,97	0,84
102,8	1,14	1,11
37,8	1,23	3,25

### Doğrusallık (CLSI, EP06)

Doğrusal regresyon  $Y = 0,9975 * X + 0,0049$  denklemine bağlı olarak 5,5 ile 400 U/L arasında doğrusaldır.

Kör Sınırı (LOB):	3,1 U/L	(CLSI, EP17-A)
Tespit Sınırı (LOD):	4,1 U/L	(CLSI, EP17-A)

### Etkileşime Neden Olan Maddeler (CLSI, EP07)

%10'un altındaki etkileşim "belirgin etkileşim yok" şeklinde sınıflanmıştır.

Hemolizden belirgin bir etkileşim vardır. Alyuvarlardaki AST konsantrasyonu serumunkinden yaklaşık 10 kat fazla olduğundan hemolizden kaçınılmalıdır.<sup>9</sup> Hemolize numuneler kullanmayın.

28 mg/dL kadar bilirubin düzeylerine kadar belirgin bir etkileşim görülmemiştir.

1500 mg/dL kadar trigliserid düzeylerine kadar belirgin bir etkileşim görülmemiştir (Intralipid\* kullanılarak).

30 mg/dL kadar askorbik asit düzeylerine kadar belirgin bir etkileşim görülmemiştir.

\*Intralipid, Pharmacia AB, Clayton, NC'nin bir tescilli ticari markasıdır.

Young, klinik kimya testleri ile etkileşime neden olan bir dizi ilaç ve diğer maddelerin bir listesini vermektedir.<sup>13, 14</sup>

## REFERANSLAR

- 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*. 1<sup>st</sup> 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 Medica'da dosyalanan veriler.
- 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.

## EASYRA MİKTAR TAYİNİ PARAMETRELERİ (AST)

Dalgaboyu (nm)	340/405 nm
Reaksiyon tipi	Enzim (0)
Reaktif yönü	Azalma
Reaktif körü	Yok
Kör numune	Yok
Maks. ilk aralık Abs. değişimi	0,026
Reaksiyon süresi	7,2 dak.
Kalibrasyon aralığı (maksimum)	N/A
Reaktif yerleşik stabilitesi	44 gün

### Serum/Plazma

Numune hacmi (µl)	8
Seyreltici hacmi (µl)	32
Reaktif hacmi (µl)	144
Ondalık haneler (varsayılan)	1
Birimler (varsayılan değerler)	U/L
Seyreltme faktörü	1:1 (ölçüm aralığını uzatmak için)
Doğrusallık	5,5-400 U/L