

REF 10206-4 4 X 31 ML / 7 ML

ASPARTATO AMINOTRANSFERASA (AST)

Cada compartimiento contiene una cantidad utilizable de 31 mL de reactivo R1. La botella de 10 mL contiene 7 ml de reactivo R2.

USO PREVISTO

El reactivo de AST EasyRA se utiliza para la determinación cuantitativa de la enzima aspartato aminotransferasa en suero y plasma humanos (con heparina de litio como anticoagulante), mediante el "Analizador de química clínica MEDICA EasyRA®". Las mediciones de la aspartato aminotransferasa se utilizan para el diagnóstico y el tratamiento de ciertos tipos de enfermedades del hígado y el corazón.

Utilizar únicamente para diagnóstico *in-vitro*. Solo para uso profesional.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La aspartato aminotransferasa es una enzima que se encuentra principalmente en el hígado, el corazón, los glóbulos rojos y el tejido muscular.¹ El daño causado a los tejidos celulares provoca un aumento de AST en suero que es proporcional a la gravedad del daño. El nivel de AST es considerablemente elevado en pacientes con hepatitis viral y cirrosis, así como en casos de infarto de miocardio.^{2,3}

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El análisis está basado en una serie de reacciones que se describen a continuación. Primero, la enzima AST cataliza la transferencia del grupo amino aspartato a α -ketoglutarato (α -KG) para producir L-glutamato y oxaloacetato (OAA).

AST

L-Aspartato + α -KG \rightarrow OAA + L-Glutamato

El OAA luego se reduce a L-malato al reaccionar con NADH en una reacción catalizada por malato deshidrogenasa (MDH).

MDH

OAA + NADH + H⁺ \rightarrow L-Malato + NAD⁺

En esta segunda reacción, la cantidad de NADH que se oxida a NAD resulta en una disminución de la absorbancia a 340 nm. Esta disminución es seguida espectrofotométricamente y es directamente proporcional a la actividad de AST en suero. La lactato deshidrogenasa (LDH) se incluye en el reactivo para reducir rápidamente cualquier piruvato presente en el suero y minimizar la interferencia con el ensayo. El método inicial fue desarrollado por Karmen^{4,5} y fue optimizado por Bergmeyer et al.⁶ La metodología del ensayo de AST EasyRA se basa en el método recomendado de la IFCC.⁷

REACTIVOS

Reactivo buffer AST (R1):

Buffer Tris, pH 7,50 (30° C)	80 mmol/L
L-Aspartato	240 mmol/L
LDH (músculo de conejo)	600 U/L
MDH (músculo porcino)	600 U/L

Reactivo sustrato AST (R2):

á-cetoglutarato	12 mmol/L
NADH, (Sal disódica)	0,18 mmol/L

PRECAUCIONES

1. Se deben seguir buenas practicas de seguridad en el laboratorio cuando se manipula cualquier reactivo. (CLSI, GP17-A2).
2. Los reactivos contienen menos de 0,1% de azida sódica que puede reaccionar al entrar en contacto con tubos de plomo y cobre y formar azidas de metal altamente explosivas. Consulte la hoja de datos de seguridad de materiales para obtener información sobre los riesgos, el peligro y la seguridad.
3. Como en todos los casos de procedimientos de evaluación de diagnóstico, los resultados se deben interpretar teniendo en cuenta todos los otros resultados de las evaluaciones y el estado clínico del paciente.
4. No utilice cubetas lavadas.

INSTRUCCIONES PARA LA MANIPULACIÓN, EL ALMACENAMIENTO Y LA ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

VIDA UTIL: 24 MESES

Mezcle los reactivos R1 y R2 en el compartimiento antes de utilizarlos. Los reactivos que no fueron abiertos son estables hasta la fecha de vencimiento indicada en la etiqueta si se almacenan a 2 – 8 °C. El reactivo de trabajo es estable una vez cargado en el área refrigerada para reactivos del Analizador EasyRA por la cantidad de días programados en el chip RFID que se encuentra en el compartimiento del reactivo. No use el reactivo si se encuentra turbio o nebuloso o si no logra obtener valores de control de suero conocidos.

RECOLECCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA/ESTABILIDAD

Los tubos recubiertos con heparina de litio pueden utilizarse para la recolección de plasma. Se deben utilizar muestras claras y no hemolizadas. La AST en suero es estable hasta 7 días a 2 – 8 °C.⁸

Limitaciones

Evitar la hemólisis, ya que la concentración de AST en los glóbulos rojos es aproximadamente 10 veces más que en la del suero.⁹ Las muestras de hemólisis con ≥ 250 mg/dL de hemoglobina pueden aumentar los valores de AST a 6 U/L o más.

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados

Compartimiento de reactivo AST (Medica AST Reagent Wedge) y botella de R2, REF 10206

Materiales adicionales necesarios

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

Medica EasyQC Chemistry/Electrolytes – Nivel A, REF 10794

Método de diagnóstico Dye Test – Medica Precision Test Dye Wedge, Ref 10764

Medica Cleaner Wedge – Chemistry & ISE, REF 10760 o

Medica Cleaner Wedge – Chemistry, REF 10761

Instrucciones de uso

Mezcle los reactivos R1 y R2 en el compartimiento antes de utilizarlos. El reactivo R1 se encuentra en el compartimiento. Agregue todo el contenido de la botellita que contiene el reactivo R2 al compartimiento y mezcle bien por inversión antes de usar. Habrá un total de 38 mL de reactivo de trabajo para usar después de la mezcla. Retire la tapa del reactivo de trabajo y colóquelo reactivo en la bandeja para el reactivo del Analizador químico Medica EasyRA ubicada en el área de los reactivos. Una vez en el compartimiento, la estabilidad del reactivo (máximo 44 días) se programa en el chip RFID del compartimiento de reactivos.

Nota: verifique que no haya espuma en la parte interna del cuello del compartimiento después de retirar la tapa y colocar el compartimiento en el analizador. Si encuentra espuma, retírela con hisopo o una pipeta desechable antes de realizar el análisis.

Calibración

No corresponde.

Control de calidad

Se recomienda llevar a cabo dos niveles de control del suero humano (normal y anormal) en el ensayo todos los días cuando se realiza la prueba en el paciente y con cada cambio de lote del reactivo. Si en el ensayo del material de control no se obtienen los rangos de valores correctos, esto es indicador de deterioro del reactivo, un mal funcionamiento del instrumento o errores de procedimiento. Cuando se utilizan materiales de control de calidad, el laboratorio debe cumplir con las normas de control de calidad locales, estatales y federales.

Resultados

Al finalizar el ensayo, el Analizador EasyRA calcula la concentración de AST a partir de la variación de absorbancia por minuto, el volumen de la muestra, el volumen de reacción total, la longitud de trayectoria (cm.) de 0,6 y la absorptividad molar de 6,22.

$$\text{AST (U/L)} = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{Volumen Total}(\mu\text{L}) \times 1000)}{(\text{Absorptividad Molar} \times \text{Paso de Luz}(\text{cm.}) \times \text{Volumen de la Muestra}(\mu\text{L}))}$$

EL U/L de la actividad de AST es la cantidad de enzimas que oxidan una $\mu\text{mol/L}$ de NADH por minuto.

Valores Esperados¹⁰

El rango de referencia para AST en suero es el siguiente:

Normal: 8 - 40 U/L (37° C)

Estos valores son solamente como referencia. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de valores debido a las diferencias que existen entre los instrumentos, los laboratorios y la población local.

Limitaciones en los procedimientos (por ejemplo: si la muestra está por encima del rango del ensayo)

Sólo se deben utilizar muestras no hemolizadas. Evite el uso de muestras turbias.

El análisis de AST es lineal hasta 400 U/L. Si la variación de absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{Min}$) es superior a 0,026, que corresponde a 400 U/L, el resultado marcará "SD" (depleción de sustrato). Las variaciones de absorbancia por minuto superiores a esta proporción están por encima del rango lineal del análisis. Si el operador selecciona el icono "Re-run", se puede volver a probar la muestra usando la mitad (1/2) del volumen de muestra. Los resultados de los análisis repetidos se calculan para que reflejen el uso de un volumen inferior de muestra. Esto aumentará el rango a reportar del análisis de AST a 800 U/L.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO¹¹

Rango a reportar

El rango a reportar es de 5,5 hasta 400 U/L. El rango extendido es de 5,5 hasta 800 U/L cuando se utiliza la mitad de la muestra (dilución 1:1).

Inexactitud/Correlación (CLSI, EP9-A2)

La tabla a continuación detalla los datos obtenidos en una comparación sobre el rendimiento del nuevo reactivo Medica para AST (y) en el Analizador EasyRA con un reactivo Medica para AST (x) anterior en el Analizador EasyRA. Los datos que se muestran a continuación representan determinaciones únicas con el nuevo reactivo Medica para AST en el Analizador EasyRA vs. el promedio de dos valores replicados obtenidos con el reactivo Medica para AST anterior en el Analizador EasyRA.

Número de muestras	80	Rango de muestras	10,3 hasta 389,5 U/L.
Pendiente	1,0203	Intercepto con y	-1,183
Coefficiente de correlación	0,9997	Ecuación de regresión	$Y = 1,0203X + -1,183$

La tabla que se encuentra a continuación detalla los datos obtenidos en una comparación de las muestras de suero pareado (x) y plasma (y) con el reactivo Medica para AST en el Analizador químico Medica EasyRA. Los datos que se muestran a continuación representan una determinación única de plasma vs. el promedio de dos valores de suero replicados.

Número de muestras	60	Rango de muestras	10,6 hasta 340,4 U/L.
Pendiente	0,9902	Intercepto con y	0,3133
Coefficiente de correlación	0,9988	Ecuación de regresión:	$Y = 0,9902 * X + 0,3133$

Imprecisión (CLSI, EP5-A2)

Las medidas duplicadas de cada uno de los tres niveles del material de control de calidad se analizaron dos veces al día durante 20 días. Ambas ejecuciones de precisión están dentro de y la precisión total fue determinada de estos datos.

Dentro de la imprecisión corriente:

Nivel del control de calidad U/L	Dentro de la depleción de sustrato actual U/L	Dentro del CV %
234,9	1,76	0,75
102,8	0,82	0,79
37,8	1,08	2,86

Imprecisión total:

Nivel del control de calidad U/L	Imprecisión total de depleción de sustrato U/L	Imprecisión total del CV %
234,9	1,97	0,84
102,8	1,14	1,11
37,8	1,23	3,25

Linealidad (CLSI, EP6-A)

Lineal desde 5,5 a 400 U/L, con base en la regresión lineal $Y = 0,9975 * X + 0,0049$.

Límite del blanco (LOB):	3,1 U/L	(CLSI, EP17-A)
Límite de detección (LOD):	4,1 U/L	(CLSI, EP17-A)

Sustancias de interferencia (CLSI, EP7-A)

Menos del 10% de interferencia fue clasificado como "interferencia no significativa".

Existe una interferencia significativa desde la hemólisis. Se debe evitar la hemólisis, ya que la concentración de AST en los glóbulos rojos es aproximadamente 10 veces más que en la del suero.⁹ No use muestras hemolizadas.

No se encontraron interferencias significativas en niveles de hasta 28 mg/dL de bilirrubina.

No se encontraron interferencias significativas en niveles de hasta 1500 mg/dl de triglicéridos (con Intralipid*).

⁹Intralipid es una marca registrada de Pharmacia AB, Clayton, NC.

Young provee una lista de drogas y otras sustancias que interfieren con los análisis de química clínica.^{12, 13}

REFERENCIAS

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*, 2nd 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. Datos de los archivos de 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.

Parámetros del ensayo (AST) EasyRA

Longitud de onda (nm)	340/405 nm
Tipo de reacción	Enzima (0)
Dirección del reactivo	Disminución
Blanco del reactivo	No
Blanco de la muestra	No
Variación máxima del primer intervalo de absorbancia	0,026
Tiempo de reacción	7,2 min.
Intervalo de calibración (máximo)	N/A
Estabilidad integrada del reactivo	44 días

Suero/Plasma

Volumen de la muestra (µl)	8
Volumen del diluyente (µl)	32
Volumen del reactivo (µl)	144
Puntos decimales (predeterminado)	1
Unidades (valores predeterminados)	U/L
Factor de dilución	1:1 (para extender el rango de medición)
Linealidad	5,5 hasta 400 U/L
Absortividad molar	6,22