ADENOSINE DEAMINASE (ADA)

COD 12754 4 x 10 mL
Apenas para uso *in vitro* em laboratório clínico

Automated Systems

BioSystems

ADENOSINA DESAMINASA (ADA)

Adenosina-Glutamato deshidrogenasa

UTILIZAÇÃO PREVISTA

Reagente para a medição da concentração de adenosina desaminase em soro humano ou líquido pleural para a avaliação das suas variações na população geral.

Ces réactifs doivent être utilisés dans les analyseurs A25 et A15 de BioSystems.

BENEFÍCIO CLÍNICO

A concentração catalítica de adenosina desaminase no líquido pleural eleva-se nos pacientes com tuberculose, pelo que a sua medição se torna útil para a diferenciação dos derrames pleurais tuberculosos e não tuberculosos[4]. A concentração elevada de adenosina desaminase no soro foi descrita em pacientes com doença hepática[6].

Com base em guias e livros de texto clínicos e quando utilizada em conjunto com outras tecnologias e opções de diagnóstico, esta informação médica é útil para a avaliação das variações de ADA. O diagnóstico clínico não deve ser realizado a partir dos achados de um único resultado de ensaio, mas deve integrar dados tanto clínicos como de laboratório.

FUNDAMENTO DO MÉTODO

A adenosina desaminase (ADA) catalisa a desaminação da adenosina, formando inosina e ião amónio. A concentração catalítica é determinada usando a reacção acoplada de glutamato desidrogenase (GIDH), a partir da velocidade de desaparecimento do NADH, medido a 340 nm[1-3].

$$\text{Adenosina} + H_2O \xrightarrow{\text{ADA}} \text{Inosina} + NH_4^+$$

$$\text{2-Oxoglutarato} + NH_4^+ + \text{NADH} + H^+ \xrightarrow{\text{GIDH}} \text{Glutamato} + NAD^+$$

CONTEÚDO E COMPOSIÇÃO

A. Reagente. 4 x 8 mL. Tris 125 mmol/L, 2-oxoglutarato 1,1 mmol/L, adenosina 6,5 mmol/L, glutamato desidrogenase > 100 U/L, azida de sódio 0,95 g/L, pH 6,8.

B. Reagente. 1 x 10 mL. NADH 1,5 mmol/L, azida de sódio 9,5 g/L.

ATENÇÃO: H302: Nocivo por ingestão. EUH031: Em contacto com ácidos liberta gases tóxicos. P301+P312: EM CASO DE INGESTÃO: caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. P330: Enxaguar a boca.

CONSERVAÇÃO

Conservar a 2-8ºC.

Os reagentes são estáveis até à data de caducidade indicada no rótulo, desde que os recipientes sejam mantidos bem fechados e que a contaminação seja evitada durante a utilização.

Indicações de degradação:

– Reagentes: Presença de partículas, turbidez, absorvância do branco inferior ao limite indicado em "Parâmetros do ensaio".

ADVERTENCIAS E PRECAUÇÕES

Realize as precauções habituais necessárias para manipular todos os reagentes de laboratório. As fichas de segurança estão disponíveis para o utilizador mediante solicitação. A eliminação de todos os resíduos deve ser feita de acordo com as diretrizes locais. Qualquer incidente grave que possa ocorrer em relação ao dispositivo deve ser comunicado à BioSystems S.A.

REAGENTES AUXILIARES

S. Padrão de ADA (BioSystems Cód. 18052). ADA bovina, Tris 50 mmol/L. A concentração de ADA é indicada no rótulo do frasco. O valor de ADA é rastreável ao material de referência BCR-647 (IRMM).
Reconstituir com 1,0 mL de água destilada. Estável durante 7 dias a 2-8 ºC ou 2 meses a -18 ºC congelado em alíquotas.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Reagente de Trabalho: Adicionar 2 mL de Reagente B numa garrafa de Reagente A. Agitar ligeiramente. Para preparar outros volumes, misturar na proporção: 4 mL de Reagente A + 1 mL de Reagente B. Estável durante 30 dias a 2-8ºC.

O reagente aberto e guardado no compartimento refrigerado do analisador é estável durante 12 dias.

EQUIPAMENTO ADICIONAL

– Analisador, espectrofotómetro ou fotómetro com tina termostatizável a 37 ºC para leituras a 340 nm.

AMOSTRAS

Líquido pleural ou soro sanguíneo recolhido por procedimentos correntes.

A adenosina desaminase nas amostras é estável durante 7 dias a 2-8ºC.

CALIBRAÇÃO

É recomendada a utilização do Padrão de ADA.

É recomendada a calibração pelo menos a cada 12 dias, depois de uma mudança do lote de reagente ou quando os procedimentos de controlo da qualidade o exigirem.

PROCEDIMENTO

Procedimento automatizado (Nota 1)

		A25	A15
GERAL	Técnica	ADA	ADA
	Modo de análise	cinética mono.	cinética mono.
	Tipo de amostra	LIQ/SER	LIQ/SER
	Unidades	U/L	U/L
	Tipo de reacção	decrescente	decrescente
	Decimais	1	1
	Nº Replicados	1	1
	Nome da técnica no relatório de paciente	-	-
PROCEDIMENTO	Leitura	monocromática	monocromática
Volumes	Amostra	15	15
	Reagente 1	300	300
	Reagente 2	-	-
	Lavagem	1,2	1,2
	Factor pré-diluição	-	-
	Fator pós-diluição reduzido	2	2
Filtros	Principal	340	340
	Referência	-	-
Tempos	Leitura 1	270 s	264 s
	Leitura 2	420 s	408 s
	Reagente 2	-	-
CALIBRAÇÃO	Tipo de calibração	específico	específico
	Replicados calibrador	-	-
	Replicados branco	3	3
	Curva de calibração	-	-
OPÇÕES	Limite absorvância branco	0,800	0,800
	Limite branco cinético	-	-
	Limite de linearidade	150	150

Procedimento manual

1. Pré-aquecer o Reagente de Trabalho e o instrumento à temperatura de reacção.
2. Pipetar numa tina:

Reagente de Trabalho	1,0 mL
Amostra / Padrão	50 µL

3. Misturar e introduzir a tina no fotómetro. Ligar o cronómetro.
4. Passados 4 minutos, anotar a absorvância inicial e fazer novas leituras a cada minuto durante 3 minutos.
5. Calcular o aumento de absorvância por minuto médio (ΔA/min).
6. Calcular a concentração de adenosina desaminase na amostra utilizando as seguintes fórmulas:

$$\frac{\Delta A/\text{min}_{\text{Amostra}}}{\Delta A/\text{min}_{\text{Padrão}}} \times C_{\text{Padrão}} = U/L$$

VALORES DE REFERÊNCIA

Líquido pleural[3]: 33 U/L = 0,55 µkat/L.

Soro[4]: Até 18 U/L = 0,30 µkat/L.

Estes valores são dados unicamente a título indicativo; recomenda-se que cada laboratório estabeleça os seus próprios intervalos de referência.

CONTROLO DE QUALIDADE

Recomenda-se a utilização dos Controlos de ADA níveis I e II (cód. 18048) para verificar a funcionalidade do procedimento de medição. Reconstituir o conteúdo dos frascos com 1,0 mL de água destilada. Agitar com cuidado, procurando evitar a formação de espuma, até dissolver por completo todo o liofilizado. Utilizar os Controlos no procedimento analítico de forma idêntica às amostras dos pacientes.

Estáveis 7 dias a 2-8ºC ou 2 meses a -18ºC congelado em alíquotas.

As concentrações de ADA são indicadas nos rótulos dos frascos. O valor de ADA é rastreável ao material de referência BCR-647 (IRMM). A rastreabilidade só pode ser garantida usando os reagentes e os procedimentos de medição recomendados pela BioSystems.

Os intervalos de valores aceitáveis sugeridos foram elaborados com base na experiência prévia em variabilidade interlaboratório e são dados unicamente a título indicativo, pois cada laboratório deve estabelecer os seus próprios parâmetros de precisão.

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

– Limite de detecção: 1,65 U/L = 0,028 µkat/L.

– Limite de linearidade: 150 U/L = 2,50 µkat/L. Quando forem obtidos valores superiores, diluir a amostra 1/10 com água destilada e repetir a medição.

– Repetibilidade (intra-série):

Concentração média	CV	n
26,7 U/L = 0,45 µkat/L	1,6 %	20
63,8 U/L = 1,06 µkat/L	1,2 %	20

– Reproduzibilidade (inter-série):

Concentração média	CV	n
26,7 U/L = 0,45 µkat/L	4,1 %	25
63,8 U/L = 1,06 µkat/L	4,4 %	25

– Veracidade: Os resultados obtidos com estes reagentes não apresentam diferenças sistemáticas significativas ao serem comparados com reagentes de referência. Os pormenores do estudo comparativo estão disponíveis sob pedido.

– Interferências: A hemólise ou separação em soro prolongada podem causar resultados mais elevados devido à concentração de adenosina desaminase elevada nos eritrócitos. A lipidemia (triglicéridos < 500 mg/dL) e bilirrubina (< 20 mg/dL) não interferem. Podem interferir outros fármacos e substâncias[5].

Estes dados foram obtidos utilizando um analisador. Os resultados podem variar ao mudar de instrumento ou ao realizar o procedimento manualmente.

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

A adenosina desaminase é uma enzima ubíqua. As concentrações mais elevadas estão nos linfócitos T, especialmente quando são estimulados. A concentração de adenosina desaminase em líquido pleural encontra-se elevada em pacientes com tuberculose e é útil para diferenciar derrames pleurais tuberculosos, com uma sensibilidade diagnóstica de 90% e uma especificidade diagnóstica de 85%4. A concentração sérica de adenosina desaminase é elevada em pacientes com doenças hepáticas[6].

O diagnóstico clínico não deve ser realizado tendo em conta o resultado de um único ensaio, mas deve integrar os dados clínicos e laboratoriais.

NOTAS

1. Estes reagentes podem ser utilizados na maioria de analisadores automáticos. Peça informação ao seu distribuidor.

BIBLIOGRAFIA

1. Bota A, Gella FJ, Canalias F. Optimization of adenosine deaminase assay by response surface methodology. *Clin Chim Acta* 2000; 290: 145-157.
2. Slaats EH, Asberg EGMT, van Keimpema ARJ, Kruijswijk H. A continuous method for the estimation of adenosine deaminase catalytic concentration in pleural effusions with a Hitachi 705 discrete analyser. *J Clin Chem Clin Biochem* 1985; 23: 677-682.
3. Villena V, Navarro-Gonzálvez JA, García-Benayas C, Manzanos JA, Echave J, López-Encuentra A, Arenas-Barbero J. Rapid automated determination of adenosine deaminase and lysozyme for differentiating tuberculous and nontuberculous pleural effusions. *Clin Chem* 1996; 42:218-221.
4. Collazos J, España P, Mayo J, Martínez E, Izquierdo F. Sequential evaluation of serum adenosine deaminase in patients treated for tuberculosis. *CHEST* 1998; 114:432-435.
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
6. Kobayashi F, Ikoda T, Marumo F, Sato C. Adenosine deaminase isoenzymes in liver disease. Am J Gastroenterol 1993; 88:226-271.

BioSystems S.A. Costa Brava, 30. 08030 Barcelona (Spain)
www.biosystems.es