

Набор для исследования Аспартатаминотрансферазы (AST)

Метод: Аспартатсубстратный

| Упаковка | Анализатор |
|--|--|
| R1: 2×20 мл R2: 1×10 мл | Полуавтоматические анализаторы |
| R1: 2×60 мл R2: 2×15 мл | Для Hitachi 917 & Beckman серий AU480/68 0/5811/5821 |
| R1: 6×60 мл R2: 2×45 мл | Для Hitachi 917 & Beckman серий AU480/68 0/5811/5821 |
| R1: 4×100 мл R2: 2×50 мл | Для Hitachi серий 717/911/912 & Shimadzu серий CL7200/8000 |
| R1: 2×50 мл R2: 1×25 мл | Для Hitachi 902 |
| R1: 2×80 мл R2: 2×40 мл | Для SYNCHRON серий CX4-5-7-9/LX20/DXC600-800 |
| R1: 5×48 мл R2: 2×30 мл | Для анализаторов T OSHIBA |
| R1: 24×4,3 мл R2: 6×4,3 мл | Для Siemens Dupont/Siemens Behring |

НАЗНАЧЕНИЕ

Для количественного *in vitro* определения Аланинаминотрансферазы в сыворотке крови как на автоматических анализаторах, так и вручную.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ^[1, 2]

Аспартатаминотрансфераза (AST), также известная как глутаматоксалоацетаттрансаминаза (GOT), представляет собой фермент, участвующий в метаболизме аминокислот. Значительное повышение уровня AST в сыворотке характерно при различных заболеваниях сердца, печени, почек, мышц (ранениях, функциональных расстройствах). Активность AST вырастает в течение 4-8 часов после инфаркта миокарда, достигая пика через 2-3 дня и снижаясь на пятый и шестой день.

ПРИНЦИП ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В реакции, катализируемой AST, участвуют два субстрата L-аспартат и оксиглутарат. С помощью коэнзима NADH малатдегидрогеназа (MDH), содержащаяся в реагенте, катализирует превращение оксалацетата, образующегося в первой реакции. Окислительно-восстановительный процесс NADH/NAD⁺ можно отследить, измеряя

скорость уменьшения оптической плотности на длине волны 340 нм. Лактатдегидрогеназа (LDH) в растворе противодействует влиянию пирувата, содержащегося в пробе.

AST

L-аспартат + α-кетоглутарат - - → оксалацетат + L-глутамат

LDH

пируват + NADH + H⁺ - - - → L-лактат + NAD⁺ + H₂O

СОСТАВ РАСТВОРОВ

| Состав | Концентрация растворов |
|-----------------------|------------------------|
| Реагент 1 (R1) | |
| Трис-буфер (pH=9,0) | 80 ммоль/л |
| L-аспартат | 240 ммоль/л |
| NADH | 0,18 ммоль/л |
| Реагент 2 (R2) | |
| Трис-буфер (pH=9,0) | 200 ммоль/л |
| LDH | >600 ед./л |
| MDH | >600 ед./л |
| α-кетоглутарат | 12 ммоль/л |

ВЗЯТИЕ И ПОДГОТОВКА ПРОБ

Рекомендуется использовать свежие пробы сыворотки. Пробы стабильны в течение 7 дней при 2-8°C.

СТАБИЛЬНОСТЬ И ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Все реагенты готовы к применению.

Стабильны вплоть до истечения срока годности при 2-8°C.

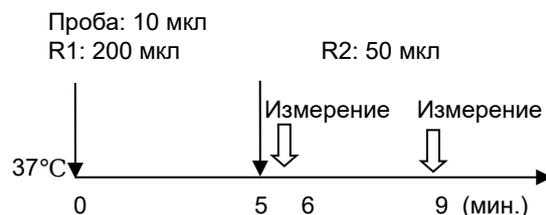
На борту анализатора реагенты стабильны в течение 28 дней после вскрытия упаковок.

МЕТОДИКА ТЕСТА

Методика теста приведена на примере анализаторов HITACHI 917.

Метод анализа: кинетика А, 20-34.

Длина волны (осн./доп.): 340 нм/405 нм.



1. Смешайте 10 мкл пробы с 200 мкл R1, инкубируйте при 37°C в течение 5 минут.
2. Добавьте 50 мкл R2 в кювету, перемешайте и инкубируйте в течение 1 минуты при 37°C.
3. Измерьте начальную оптическую плотность, одновременно запустив таймер, и выполните повторные измерения через 1, 2 и 3 мин.

4. Рассчитайте изменение оптической плотности в минуту $\Delta A/\text{мин}$.

КАЛИБРОВКА

В данном тесте рекомендуется использовать калибратор GCell.

РАСЧЕТ

Расчет при использовании калибратора

$$\text{Концентрация} = \frac{\Delta A_{\text{пробы}}/\text{МИН}}{\Delta A_{\text{калибратора}}/\text{МИН}} \times \text{Значение калибратора}$$

Расчет при использовании фактора

$$\text{AST (ед./л)} = \frac{\Delta A/\text{мин} \times V_t}{K \times V_s \times L} \times 1000 = \Delta A/\text{мин} \times$$

$$K = 4180$$

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для ежедневного контроля качества рекомендуется использовать контроль GCell. Полученные значения должны попадать в указанный диапазон. Если полученные значения выходят за рамки диапазона, и повторный тест исключает ошибку, следует выполнить следующие действия:

1. Проверьте адаптации и источник света.
2. Проверьте температуру реакции.
3. Проверьте срок годности набора и его компонентов.

РЕФЕРЕНСНЫЕ НОРМЫ

Рекомендуется устанавливать референсные нормы в каждой лаборатории с учетом вида животного, возраста, пола и географического места проживания популяции.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

ЛИНЕЙНОСТЬ

Область линейности данного метода распространяется до 1000 ед./л. Если концентрация аналита в пробе превышает указанную величину, пробу следует развести 0,9% раствором NaCl и выполнить повторный тест. Результат следует умножить на коэффициент разведения.

ТОЧНОСТЬ (ПРЕЦИЗИОННОСТЬ)

Значение CV теста не должно превышать 10%.

| Точность в рамках 1 определения | | |
|---------------------------------|-----------|-----------|
| N=20 | Уровень 1 | Уровень 2 |
| Среднее значение | 33 | 151 |
| SD | 1,02 | 1,14 |
| CV | 3,07% | 0,75% |

Точность между определения

| N=5 | Изм. 1 | Изм. 2 | Изм. 3 |
|---|---|--------|--------|
| Среднее (ед./л) | 32,7 | 31,7 | 32,7 |
| \bar{x} | 32,4 | | |
| $(X_{\text{max}} - X_{\text{min}}) / \bar{x}$ | $(32,7 - 31,7) / 32,4 \times 100 = 3,1\%$ | | |

МЕШАЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ

Было показано, что следующие аналиты не оказывают мешающего влияния вплоть до указанных уровней:

| | |
|-----------------------|------------|
| Гемоглобин: | 500 мг/дл |
| Триглицериды: | 1000 мг/дл |
| Общий билирубин: | 40 мг/дл |
| Аскорбиновая кислота: | 50 мг/дл. |

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

1. Только для *in vitro* диагностики. Не раскапывать с помощью рта. Соблюдайте обычные меры предосторожности при обращении с лабораторными реагентами.
2. Реагент содержит азид натрия. Избегайте попадания внутрь и контакта с кожей и слизистыми. При попадании на кожу промойте место контакта большим количеством воды, при попадании в глаза или проглатывании немедленно обратитесь к врачу.
3. Азид натрия реагирует со свинцом и медью с образованием потенциально взрывоопасных азидов. При утилизации подобных реагентов следует промыть слив большим количеством воды во избежание отложения азидов. Металлические поверхности следует промыть 10% раствором гидроксида натрия.
4. Все пробы следует рассматривать как потенциально инфицированные (вирусы иммунодефицита, гепатита В, гепатита С) и обращаться с ними с особой осторожностью.
5. Не смешивайте реагенты различных лотов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wroblewski F, La Due J.S: Ann. Intern. Me d. 1956; 45:801.
2. Wroblewski F, La Due J.S: Proc. Soc. Ex p. Biol. Med. 1956; 91:569.

