

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.

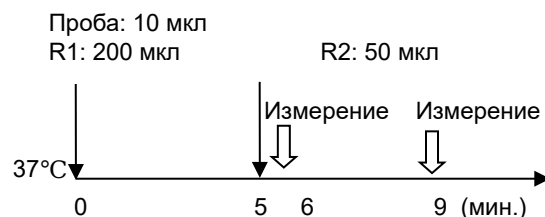
На борту анализатора реагенты стабильны в течение 28 дней после вскрытия упаковок.

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.

