работ «in vitro» в клинической лаборатории

ASPARTATE **AMINOTRANSFERASE**





АСПАРТАТАМИНОТРАНСФЕРАЗА (AST/GOT)

IFCC

ПРИНЦИП МЕТОДА

Аспартатаминотрансфераза (AST/GOT) катализирует перенос аминогруппы от аспартата к 2-оксоглютарату, образуя оксалацетат и глютамат. Активность АСТ определяется по скорости уменьшения NADH, оптическая плотность которого измеряется при 340 нм (в реакции с участием малатдегидрогеназы - МДГ) 1, 2,

Аспартат+2-Оксиглютарат
$$\xrightarrow{ACT}$$
 Оксалацетат+ Γ лютамат Оксалацетат + NADH + H+ \xrightarrow{MDH} Малат + NAD+

НАБОРЫ

		Код 11830	Код 11531	Код 11567	Код 11561
ſ	РеагентА	1 х 40 мл	1 х 160 мл	1 х 400 мл	1 х 800 мл
	Реагент В	1 х 10 мл	1 х 40 мл	1 х 100 мл	1 х 200 мл

COCTAB

А Реагент: Трис 121 ммоль/л, L-аспартат 362 ммоль/л, малатдегидрогеназа >460 Ед/л, лактатдегидрогеназа > 660 Ед/л, гидроксид натрия 255 ммоль/л, рН 7.8.

Вызывает раздражение (Xi): R36/38: Избегать контакта с кожей и глазами. S26: В случае контакта с глазами немедленно промыть большим количеством воды и обратиться за медицинской помощью. S37/39: Пользуйтесь перчатками и зашитными очками/маской

В. Реагент: NADH 1.3 ммоль/л, 2-оксиглютарат 75 ммоль/л, гидрохлорид натрия 148 ммоль/л, азид натрия 9.5 г/л.

Вредный (Xn): R22. Не глотать. R31: при контакте с кислотами высвобождает токсичный газ. S28.1: После контакта с кожей немедленно промыть водой. S45: при несчастном случае и плохом самочувствии, немедленно обратитесь за медицинской помощью

ХРАНЕНИЕ

Хранить при 2-8°C.

Реагенты стабильны до окончания срока годности, указанного на этикетке, при хранении в плотно закрытом сосуде и предотвращении загрязнения во время использования.

Реагенты: присутствие взвешенных частиц, мутность, абсорбция бланка ниже 1.100 при 340 нм (1 см кювета).

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЙ РЕАГЕНТ

С. Реагент (код 11666): Пиридоксальфосфат 10 ммоль/л, 5 мл.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАКТИВОВ

Рабочий реагент:

флакона с реагентом В в бутыль с реагентом А. Осторожно Налить содержимое перемещать. Другие объемы рабочего реактива могут быть приготовлены следующим образом: 4 мл реагента A+1 мл реагента В. Раствор стабилен в течение 2 месяцев при 2-8°C. Рабочий реагент с пиридоксальфосфатом (примечание1):

Перемешать: 10 мл Рабочего реагента + 0.1 мл Реагента С (код 11666). Стабильность составляет 6 дней при 2-8°C.

НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

- Анализатор, спектрофотометер или фотометр с термостатируемой измерительной ячейкой на 30 или 37°C с фильтром 340 нм
- Кюветы с длиной оптического пути 1 см

ПРОЦЕДУРА

- 1. Нагреть Рабочий Реагент и измерительную ячейку фотометра до температуры
- 2. Внести в кювету (примечание 2):

Температура реакции	37°C	30°C
Рабочий Реагент	1.0 мл	1.0 мл
Образец	50 мкл	100 мкл

- 3. Перемешать и поместить кювету в измерительную ячейку фотометра. Начать отсчет времени.
- Через 1 минуту (примечание 1), измерить начальную абсорбцию, повторять измерение с интервалом в 1 минуту в течение 3 минут.
- 5. Вычислить разницу между последовательно измеренными значениями абсорбции и рассчитать среднюю дельту абсорбции за минуту - $\Delta A/$ мин.

PACYFT

M11531r-20

Концентрация АСТ/ГОТ в образце вычисляется по следующей формуле:

Коэффициент молярной абсорбции (ε) NADH при 340 нм составляет 6300, оптический путь (I) составляет 1 см, общий реакционный объем (Vt) равен 1.05 при 37° С и 1.1 при 30° С, объем образца (Vs) равен 0.05 при 37° С и 0.1 при 30° С, и $1E_{B}/\pi$ равен 0.0166 мккат/л. Для расчета активности фермента используйте следующие факторы

	37°C	30°C
Δ А/мин	х 3333 = Ед/л х 55.55 = мккат/л	х 1746 = Ед/л х 29.1 = мккат/л

НОРМАЛЬНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Температура реакции	37°C	30°C
Без пиридоксаль фосфата, до 4 С пиридоксаль фосфатом, до 1,2	40 ед/л = 0.67 мккат/л 50 ед/л = 0.83 мккат/л	25 ед/л = 0.42 мккат/л 30 ед/л = 0.50 мккат/л

Концентрации у новорожденных и младенцев выше, чем у взрослых. Величины АСТ у мужчин слегка выше, чем у женщин.

Данные величины ориентировочны, каждая лаборатория должна устанавливать свои диапазоны нормальных значений.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для проведения контроля качества теста и процедуры исследования рекомендуется использовать Контрольную сыворотку Уровень I (код 18005, 18009 и 18042) и уровень II (код 18007, 18010 и 18043). Каждая лаборатория должна выработать собственную схему внутреннего контроля качества и процедуры для коррекции действий в случае, если контроль качества не укладывается в приемлемые диапазоны.

МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- Предел обнаружения: 1.1 Ед/л = 0.018мккат/л
- Предел линейности: 500 Ед/л = 8.33 мккат/л. Для более высоких значений следует развести образец дистиллированной водой 1/10 и повторить измерение.
- Сходимость (в пределах серии):

Средняя концентрация	CV	n		
38 Ед/л = 0.72 мккат/л 119 Ед/л = 3.20 мккат/л	1.4 % 1.5 %	20 20		
Воспроизводимость (от серии к серии):				

Средняя концентрация	CV	n
38 Ед/л = 0.72 мккат/л	5.9 %	25
119 Ед/л = 3.20 мккат/л	3.8 %	25

- Достоверность: Результаты, полученные с данными реагентами не показывали значительных отличий при сравнении с результатами, полученными с другими реагентами. Детали сравнительных экспериментов доступны по требованию.
- -Интерференция: Билирубин (20 мг/дл) не влияет на результаты. Гемолиз и липемия (триглицериды 2 г/л) могут влиять на результаты. Некоторые вещества и лекарства могут искажать результат⁵.

Данные метрологические характеристики были получены при использовании анализатора, при использовании другого оборудования или ручных методов результаты могут варьировать

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аспартатаминотрансфераза катализирует образование глютаминовой кислоты из 2-оксоглютарата посредством переноса аминогруппы. АСТ в максимальной концентрации находится в печени и сердечной мышце, но также присутствует в высоких концентрациях в скелетной мускулатуре, почках и поджелудочной железе.

Сывороточные концентрации АСТ повышены при гепатите и других заболеваниях печени, связанных с некрозом: инфекционном мононуклеозе, холестазе, циррозе, метастатической карциноме печени, алкогольном делирии и после приема различных лекарств 4,5

Сывороточные концентрации АСТ также повышены после инфаркта миокарда, при заболеваниях скелетной мышцы (например, прогрессирующей мышечной дистрофии), при остром панкреатите или гемолитической болезни и т.д. 4,6

Клинический диагноз не должен основываться на результатах отдельного теста, он должен согласовываться с результатами клинических и лабораторных данных.

ПРИМЕЧАНИЯ

- 1. IFCC рекомендует методы с добавлением пиридоксальфосфата. В этом случае время инкубации следует увеличить до 2 минут.
- 2. Данные реагенты могут использоваться в различных автоматических анализаторах. Инструкции доступны по требованию.

- 1. Sociedad Española de Química Clínica, Comité Científico, Comisión de Enzimas. Método recomendado para la determinación en rutina de la concentración catalítica de la aspartato aminotransferasa en suero sanguíneo humano. Quim Clin 1987; 6: 235-239.
- 2. Approved recommendations (1985) on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes. Part 2: IFCC Method for Aspartate Aminotransferase (EC 2.6.1.1). J Clin Chem Clin Biochem 1986; 24:497-510.
- 3. Gella FJ, Olivella T, Cruz Pastor M, Arenas J, Moreno R, Durban R and Gómez JA. A simple procedure for routine determination of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase with pyridoxal phosphate. Clin Chim Acta 1985; 153: 241-247.
- 4. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
- 5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
- 6. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001