

ASAT

Zestaw odczynnikowy do oznaczania aktywności aminotransferazy asparaginianowej (ASAT, GOT)

Tylko do diagnostyki in vitro

Nr kat. **5012.1**

3 x 50 ml (R1: 3 x 40 ml; R2: 1 x 30 ml)

Nr kat. **5012.2**

3 x 100 ml (R1: 3 x 80 ml; R2: 1 x 60 ml)



ZASTOSOWANIE

Zestaw służy do oznaczania aktywności aminotransferazy asparaginianowej w surowicy i osoczu krwi.

ZASADA METODY

Modyfikowana metoda oparta na zaleceniach Międzynarodowego Towarzystwa Chemii Klinicznej (IFCC), bez aktywacji fosforanem pirydoksalu.

$$\text{L-asparaginian} + 2\text{-oksoglutaran} \xrightleftharpoons{\text{ASAT}} \text{szczawiooctan} + \text{L-glutaminian}$$

$$\text{szczawiooctan} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightleftharpoons{\text{MDH}} \text{jabłczan} + \text{NAD}^+$$

Aminotransferaza asparaginianowa katalizuje przeniesienie grupy aminowej z asparaginianu na 2-oksoglutaran tworząc szczawiooctan i glutaminian. Szczawiooctan jest redukowany przez NADH, w wyniku czego powstaje jabłczan i NAD. Szybkość zmian absorbancji, mierzona przy długości fali 340 nm, jest proporcjonalna do aktywności aminotransferazy asparaginianowej.

MATERIAŁ DO BADAŃ

Surowica lub osocze pobrane zgodnie ze standardowymi procedurami. Jako antykoagulanty mogą być stosowane: szczawian, cytrynian, EDTA i heparyna. Próbkę można przechowywać do 7 dni w temp. 2-8°C.

WARTOŚCI PRAWDŁOWE

Dorośli	25°C	30°C	37°C
mężczyźni	< 18 U/l (< 0,30 μkat/l)	< 25 U/l (< 0,40 μkat/l)	< 38 U/l (< 0,65 μkat/l)
kobiety	< 15 U/l (< 0,25 μkat/l)	< 21 U/l (< 0,35 μkat/l)	< 32 U/l (< 0,55 μkat/l)

Podane wartości należy traktować jako orientacyjne. Zaleca się, aby każde laboratorium określiło własne zakresy wartości prawidłowych.

SKŁAD ODCZYNNIKÓW

R1

Bufor TRIS pH 7,60 100 mmol/l
L-Asparaginian 300 mmol/l
Dehydrogenaza mleczanowa (LDH) 0,9 kU/l
Dehydrogenaza jabłczanowa (MDH) 0,6 kU/l
Azydek sodu < 13,9 mmol/l

R2

Bufor węglanowy pH 9,65 7 mmol/l
2-Oksoglutaran 60 mmol/l
NADH 1,1 mmol/l
Azydek sodu < 13,9 mmol/l
Niereaktywne detergenty i stabilizatory

PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKA ROBOCZEGO

Zmieszać odczynniki R1 i R2 w stosunku 4 + 1. Odczynnik roboczy jest stabilny przez 2 miesiące w temp. 2-8°C lub 5 dni w temp. 15-25°C.

PRZECHOWYWANIE ODCZYNNIKÓW

Przechowywać w temp. 2-8°C w oryginalnych, zamkniętych opakowaniach. Chronić przed kontaminacją i bezpośrednim działaniem światła. Nie zamrażać.

Po otwarciu odczynniki prawidłowo przechowywane i chronione przed zanieczyszczeniem są stabilne do daty ważności podanej na opakowaniu.

CHARAKTERYSTYKA UŻYTKOWA

Limit detekcji: 3,5 U/l (0,06 μkat/l)

Czułość: 0,6 ΔmA x l / U x min. (34,3 ΔmA x l / μkat x min.)

Liniowość: 300 U/l (5,9 μkat/l). Dla wyższych aktywności próbkę należy rozcieńczyć 0,9 % roztworem NaCl; wynik oznaczenia pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia.

Powtarzalność (w serii oznaczeń):

poziom	I	II
n	18	18
średnia (U/l)	41,63	143,33
średnia (μkat/l)	0,69	2,39
% CV	< 3,00 %	< 2,50 %

Odtwarzalność (między seriami oznaczeń):

poziom	I	II
n	18	18
średnia (U/l)	39,48	145,07
średnia (μkat/l)	0,66	2,42
% CV	< 5,00 %	< 4,00 %

Korelacje:

Badania korelacji wyników z wynikami uzyskanymi za pomocą odczynników referencyjnych nie wykazały znaczących różnic. Dokładne wyniki badań są dostępne na życzenie.

Interferencje:

Bilirubina do 20 mg/dl nie wpływa na wyniki oznaczeń. Nie stosować próbek zhemolizowanych i silnie lipemicznych. Inne substancje i leki mogą interferować.

KONTROLA POPRAWNOŚCI DZIAŁANIA

W celu zapewnienia wiarygodności wykonywanych oznaczeń zaleca się stosowanie surowic kontrolnych z wartościami ASAT zmetrykowanymi dla metody IFCC bez aktywacji fosforanem pirydoksalu. Nie stosować odczynników, jeżeli absorbancja odczynnika roboczego mierzona wobec wody przy długości fali 340 nm jest niższa niż 1,100.

DODATKOWE MATERIAŁY I WYPOSAŻENIE

-Fotometr lub analizator automatyczny z termostatowanym gniazdem pomiarowym umożliwiającym pomiar absorbancji przy długości fali 340 nm.

- Standardowe wyposażenie laboratorium diagnostycznego

- W przypadku oznaczeń z aktywacją fosforanem pirydoksalu – dodatkowo potrzebny fosforan pirydoksalu (P5P).

WYKONANIE OZNACZENIA

Do kuwety napipetować:

Odczynnik roboczy: 1000 μl

Doprowadzić do temperatury oznaczenia (25°C, 30°C lub 37°C), następnie dodać:

Próbka: 100 μl

Dokładnie wymieszać; po 1 min. inkubacji w temperaturze oznaczenia

odczytać absorbancję wobec powietrza lub wody przy dł. fali 340 nm.

Powtarzać odczyty absorbancji po dokładnie 1, 2 i 3 minutach.

Wyznaczyć średnią zmianę absorbancji na minutę (ΔA/min.).

OBLICZENIA

Obliczenia prowadzone są w oparciu o następujący wzór:

$$\text{aktywność ASAT [U/l]} = \frac{V_t \times 10^5}{\varepsilon \times l \times V_s} \times \Delta A/\text{min.}$$

V_t - całkowita objętość mieszaniny reakcyjnej = 1,10 ml

ε - molowy współczynnik absorbancji NADH przy długości fali 340

nm = $6,3 \times 10^2 \text{ m}^2/\text{mol}$

l - długość drogi światła = 1 cm

V_s - objętość próbki = 0,10 ml

aktywność ASAT [U/l] = 1746 x AA/min.

aktywność ASAT [μkat/l] = 29,1 x AA/min

INFORMACJE DODATKOWE

1. Do oznaczania aktywności ASAT z fosforanem pirydoksalu należy dodatkowo zastosować fosforan pirydoksalu (P5P).
2. Odczynniki zawierają azydek sodu. Przy pracy z odczynnikami stosować środki ostrożności typowe dla rutynowych prac laboratoryjnych.
3. Odpady utylizować zgodnie z obowiązującymi przepisami - przez termiczne przekształcanie lub odpowiednimi metodami obróbki fizyczno-chemicznej.
4. Aplikacje do analizatorów automatycznych dostarczamy na życzenie.

REFERENCJE

1. Thefeld W., Hoffmeister H., Busch E. W., Koller P. U., Vollmar J.: Referenzwerte für die Bestimmung der Transaminasen GOT und GPT sowie der alkalischen Phosphatase im Serum mit optimierten Methoden. Dtsch. Med. Wschr. 99, 343 (1974).
2. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 15, 39-51 (1976).
3. Young D. S.: Effects of drugs on clinical laboratory tests, AACC Press, 4th ed. (1995).
4. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes. Part 5. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of aspartate aminotransferase [L-aspartate: 2-oxoglutarate aminotransferase (AST), EC 2.6.1.1). Clin. Chem. Lab. Med. 40, 725-733 (2002).