

**AST/SGOT  
АСПАРТАТ АМИНОТРАНСФЕРАЗА  
UV-КИНЕТИЧЕН МЕТОД****ЗА КОЛИЧЕСТВЕНО ИЗСЛЕДВАНЕ НА АСПАРТАТ АМИНОТРАНСФЕРАЗА В СЕРУМ****ПРИНЦИП НА МЕТОДА**

AST  
L-Aspartate+2-Oxoglutarate → Oxalacetate+L-Glutamate  
MDH

Oxalacetate+NADH+H<sup>+</sup> → L-Malate+NAD<sup>+</sup>+H<sub>2</sub>O

AST катализира преноса на аминогрупа между L-аспартат и 2-оксoglutarат. Оксалацетатът образуван в първата реакция реагира с NADH в присъствието на малат дехидрогеназа и се образува NAD. Активността на AST се определя чрез измерване на скоростта на окисление на NADH при 340 nm. Лактат дехидрогеназата е добавена към реагента, за да се преобразува ендогенния пируват в пробата до лактат по време на лагфазата преди измерването.

**РЕАГЕНТИ**

След разтваряне според указанията, реагентът съдържа:

2-Oxoglutarate	12 mM
L-Aspartic Acid	200 mM
NADH	0.19 mM
MDH	600U/L
LDH	800U/L
Buffer, pH 7.8 ± 1	100 mM
Нереактивни консерванти и добавки	

**ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ**

Реагентите са само за "ин витро" употреба. Трябва да се спазват обичайните предпазни мерки за работа с лабораторни реагенти да се избягва контакт с кожата и очите и поглъщане. Третирайте всички серуми като потенциално заразни. Използвайте дестилирана или дейонизирана вода според указанията.

**СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ НА РЕАГЕНТИТЕ**

Съхранявайте сухия реагент при 2-8°C. Разтвореният реагент е стабилен в продължение на 8 (осем) часа на стайна температура и 21 дни, ако веднага се постави при 2-8°C.

Работният реагент трябва да бъде изхвърлен, ако началната абсорбция спрямо вода при 340 nm е под 0.8 или ако реагентът не отговаря на посочените стойности за линейност и на контролните стойности.

**СЪБИРАНЕ И СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИТЕ**

Препоръчително е да се използва серум. Според литературата AST е стабилен в серума поне седем дни при 4°C. Не трябва да се използват хемолизирани проби, тъй като еритроцитите съдържат петнайсет пъти по-високи нива на AST, отколкото серума.

**ИНТЕРФЕРИРАЩИ СУБСТАНЦИИ**

Пиридоксалният фосфат може да причини повишени стойности на AST, като активира апоензимната форма на трансаминазата. Пиридоксалният фосфат може да се намери във вода, заразена с микробен растеж. Високите нива на серумен пируват също могат да окажат интерфериращо въздействие. В литературата е посочен изчерпателен списък на медикаментите, които също интерферира със стойностите на AST.

**ПРОЦЕДУРА ЗА МАНОУАЛНА РАБОТА**

1. Разтворете реагента според инструкциите.
2. Нулирайте спектрофотометъра при 340 nm с дестилирана вода.
3. Пипетирайте 1.0 mL от реагента в епруветка и темперирайте при 37°C.
4. Добавете 100µL (0.10mL) серум в съответната кювета, разбъркайте леко.
5. Върнете в термокуветата. След 1 минута отчетете абсорбцията при 340 nm.
6. Отчетете абсорбцията още 2 пъти през интервали от 1 минута. Изчислете средната абсорбция на минута (ΔA/min).
7. Умножете по фактор 1768, за да получите резултатите в IU/L.

**Забележка:** Ако спектрофотометърът изисква крайно количество по-голямо от 1.0 ml, използвайте Резервната процедура, за да постигнете точни отчитания.

**ИЗЧИСЛЕНИЯ**

$$AST(IU/L) = \frac{\Delta Abs/min \times TV \times 1000}{\epsilon \times LP \times SV} = \frac{\Delta Abs/min \times 1.1 \times 1000}{6.22 \times 0.1 \times 1.0}$$

$$= \Delta Abs/min \times 1768$$

ΔAbs/min = средната разлика в абсорбцията на минута

TV = общия обем на реакцията (ml)

1000 = преизчисление на IU/ml в IU/L

ε = милимолярна абсорбтивност на NADH

LP = светлинен път (cm)

SV = обем на пробата (ml)

Пример: ΔAbs/min = 0.15 Тогава 0.15 x 1768 = 265 IU/L

За да се конвертират резултатите в SI единици (nkat/L), умножете стойността в IU/L по 16.67

**Забележка:** Ако параметрите на теста се променят, факторът трябва да се преизчисли с горепосочената формула.

**РЕЗЕРВНА ПРОЦЕДУРА**

1. Разтворете реагента според инструкциите.
2. Пипетирайте 3.0 ml от реагента в 1 cm кювета и я оставете да се темперира при 37°C.
3. Добавете 0.20 ml (200µl) от пробата към реагента. Разбъркайте леко.
4. Темперирайте при 37°C и след една минута отчетете абсорбцията при 340 nm. (A1)
5. След точно пет минути отчетете и запишете абсорбцията (A2)
6. Изчислете разликата в абсорбцията между отчитанията A1-A2 и умножете по фактор 514.

**Забележки:** Проби със стойности над 500 IU/L трябва да се разреждат с физиологичен разтвор, да се изследват отново и крайният резултат да се умножи по 2.

Мътни или силно иктерични проби могат да дадат първоначална абсорбция надвишаваща обхвата на спектрофотометъра. За по-точни резултати използвайте 0.10 ml проба към 3.0 ml от реагента и умножете крайният резултат по 2.

**ИЗЧИСЛЕНИЯ**

$$AST(IU/L) = \frac{\Delta Abs/min \times TV \times 1000}{\Delta T \times \epsilon \times LP \times SV} = \frac{(A1-A2) \times 3.2 \times 1000}{5 \times 1 \times 6.22 \times 0.2}$$

$$= (A1-A2) \times 514$$

Където:

A1 – A2 разлика в абсорбцията

ΔT интервал време между отчитанията

Пример: A1 = 1.45, A2 = 1.28, то (1.45-1.28) x 514 = 0.17 x 514 = 87 IU/L

**Забележка:** Ако параметрите на теста се променят, факторът трябва да се преизчисли с горепосочената формула.

**ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ**

До 28 IU/L (30°C) До 40 IU/L (37°C)

Препоръчително е всяка лаборатория да установи свой обхват от очаквани стойности.

**ХАРАКТЕРИСТИКИ НА ТЕСТА**

1. Линейност: 500 IU/L.
2. Сравнения: Изследване, сравняващо настоящия метод с подобен метод върху 22 пресни серума от 12 IU/L до 84IU/L даде коефициент на корелация 0.98 и уравнение на регресията y = 1.04x - 1.25.
3. Чувствителност: При резолюция на апарата A=0.001, процедурата има чувствителност от 2 IU/L.
4. Точност:

	В серия		Между серии	
	Серум 1	Серум 2	Серум 1	Серум 2
Средна стойн.(IU/L)	22.3	88.3	21.9	83.8
Станд. откл.	1.1	5.1	2.3	3.6
C.V.(%)	4.8	5.7	10.5	4.4

REV: 10/01

**Производител:** Teco Diagnostics, 1268 N. Lakeview Avenue, Anaheim, CA 92807 USA Tel. 714 693 7788 Fax: 714 693 3838

**Вносител:** "ЕТГ" ЕООД, София 1504, ул. Тракия №15, офис 1