

**ГЛУТАМАТ ОКСАЛОАЦЕТАТ ТРАНСМИНАЗА (ГОТ) (АСТ)**

Кат. № : D94610; D98616

Производитель: DIALAB (Австрия)

Методика от 01-03-2006

Внимание: основой при проведении анализа есть оригинал инструкции на англ. языке.**Диагностический реагент для количественного определения на фотометрических системах *in vitro* ГОТ (АСТ) в человеческой сыворотке или плазме.**

Ссылка	Содержимое		
D94610	5 x 100 мл	4 x 100 мл	Реагент 1
		1 x 100 мл	Реагент 2
D98616	5 x 50 мл	4 x 50 мл	Реагент 1
		1 x 50 мл	Реагент 2

Дополнительно поставляются:

D96361	1 x 4 мл	Пиридоксал-5-фосфат	
D98485	5 x 3 мл	Калибратор	Diacal Auto
D98481	12 x 5 мл	Контроль норма	Diacon N
D98482	12 x 5 мл	Контроль патология	Diacon P

ПАРАМЕТРЫ АНАЛИЗА

Метод:	УФ, кинетический, возрастающей реакции, адаптированный IFCC
Длина волны:	340 нм, Hg 334 нм, Hg 365 нм
Температура:	25°C, 30°C, 37°C
Образец:	сыворотка, ЭДТА-, гепариновая плазма
Линейность:	до 940 Е/л на Hitachi 911
Чувствительность:	нижний предел определения – 2 Е/л

СОСТАВ РЕАГЕНТОВ

Компоненты	Конечная концентрация
Реагент 1	
Tris, pH 7.8	80 ммоль/л
L-аспартат	240 ммоль/л
MDH	≥ 600 Е/л
LDH	≥ 1200 Е/л
Реагент 2	
2-оксoglутарат	12 ммоль/л
NADH	0,18 ммоль/л

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ**Субстрат:**
Реагенты готовы к применению.**Образец:**
Смешайте 4 части P1 + 1 часть P2 (=рабочего реагента).**СТАБИЛЬНОСТЬ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ****Условия:** защищать от света, немедленно закрывать после использования. Реагенты не замораживать!

Субстрат:	
Хранение:	при 2 – 8°C
Стабильность:	до окончания срока годности
Образец (рабочий реагент):	
Хранение:	при 2 – 8°C 4 недели
Стабильность:	при 15 – 25°C 5 дней
Максимально разрешимая абсорбция рабочего реагента, измеренная при 340 нм в соотношении с водой как референтным материалом, составляет 1,6.	

СТАБИЛЬНОСТЬ И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Потеря активности:	при 2 – 8°C	< 8% в теч. 3 дней
	при 15 – 25°C	< 10% в теч. 3 дней
Стабильность:	при - 20°C	минимум 3 месяца
Удалить загрязненные образцы.		

ПЕРЕКРЕСТНО-РЕАГИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА

Нет перекрестной реакции в концентрациях до:

Аскорбиновая кислота	30 мг/дл
Билирубин	40 г/дл
Триглицериды	2000 мг/дл

Наличие гемоглобина в сыворотке указывает на разрушение эритроцитов с образованием ГОТ, приводя при этом к значительному воздействию.

РУЧНАЯ ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Приведите реагенты и образцы к комнатной температуре.
Примечание: Если используется пиридоксаль фосфата (ПФ), пожалуйста, обратитесь к инструкции для ПФ перед проведением анализа (только для субстрата).

Субстрат	25°C, 30°C	37°C
Внесите в пробирки для анализа:		
Реагент 1	1000 мкл	1000 мкл
Образец	200 мкл	100 мкл
Смешать, инкубировать приблиз. 5 мин. Затем добавить:		
Реагент 2	250 мкл	250 мкл
Смешать. Считать вхолостую первичную абсорбцию через 1 мин. и включить таймер. Считать абсорбцию снова ровно через 1,2 и 3 минуты.		

Образец	25°C, 30°C	37°C
Внесите в пробирки для анализа:		
Рабочий реагент для образца	1000 мкл	1000 мкл
Образец	200 мкл	100 мкл
Смешать, инкубировать приблиз. 1 мин. Затем добавить:		
Реагент 2	250 мкл	250 мкл
Смешать. Считать вхолостую первичную абсорбцию через 1 мин. и включить таймер. Считать абсорбцию снова ровно через 1,2 и 3 минуты.		

ВЫЧИСЛЕНИЕ (световая дорожка 1 см)
ГОТ (Е/л) = ΔА/мин. x коэффициент**Коэффициенты:**

Субстрат:	25° или 30°C	37°C
Коэффициент при 340 нм	1151	2143
Коэффициент при 334 нм	1173	2184
Коэффициент при 365 нм	2132	3971
Образец:	25° или 30°C	37°C
Коэффициент при 340 нм	952	1745
Коэффициент при 334 нм	971	1780
Коэффициент при 365 нм	1765	3235

ПРЕОБРАЗОВАНИЕ ЕДИНИЦ

Е/л x 0,1667 = мккатал/л

РЕФЕРЕНТНЫЙ ДИАПАЗОН* (Е/л)

Без добавления фосфата пиридоксала:

	25°C	30°C	37°C
Мужчины	< 18	< 25	< 37
Женщины	< 15	< 21	< 31

С добавлением фосфата пиридоксала:

	30°C	37°C
Мужчины	7 – 34	10 – 50
Женщины	7 – 24	10 – 35

*Рекомендуется, чтобы каждая лаборатория устанавливала свой собственный диапазон нормы.

ПРИНЦИП АНАЛИЗА

NADH окисляется к NAD⁺, образовавшееся понижение в спектральной поглощательной способности при 340 нм непосредственно пропорционально активности ГОТ в образце: L-аспартат + 2-оксoglутарат < ГОТ > оксалоацетат + L-глутамат Оксалоацетат + NADH + H⁺ < MHD > L-малат + NAD⁺
Это адаптированная реакция для анализа ГОТ, как рекомендовано IFCC (Международной федерацией клинической химии). Эталонный метод IFCC включает пиридоксаль фосфата (ПФ). ПФ функционирует как кофермент в передачи АА, поэтому добавление ПФ ведет к увеличению ферментной активности. Это предотвращает ошибочно низкие значения в образцах, содержащих недостаточный объем эндогенного ПФ, например, у пациентов с инфарктом миокарда, болезнью печени и интенсивной терапией.

СОКРАЩЕНИЯ

AA	=	Аминокислота
GOT	=	Глутамат оксалоацетат трансминаза
NAD ⁺	=	Никотинамид аденин динуклеотид
NADH	=	Восстановленный NAD
LDH	=	Лактат дегидрогеназа

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**Линейность**

Данный анализ является линейным до $\Delta A/\text{мин.} = 0,16$ при 340 нм и 334 нм или 0,08 при 365 нм.

Превыше этой концентрации разбавьте образец раствором NaCl (9 г/л хлорида натрия в воде) и повторите анализ, умножая результат на коэффициент разбавления.

Точность (при 37°C)

Без пиридоксал-5-фосфата

В пределах процедуры к-во = 20	Среднее значение (Е/л)	СО (Е/л)	КВ (%)
Образец 1	25,1	0,82	3,25
Образец 2	51,3	1,57	3,06
Образец 3	116	0,90	0,77
Между процедурами к-во = 20	Среднее значение (Е/л)	СО (Е/л)	КВ (%)
Образец 1	25,7	1,13	4,40
Образец 2	48,6	0,67	1,38
Образец 3	115	0,80	0,69

С пиридоксал-5-фосфатом

В пределах процедуры к-во = 20	Среднее значение (Е/л)	СО (Е/л)	КВ (%)
Образец 1	43,6	1,10	2,51
Образец 2	74,5	1,79	2,41
Образец 3	174	3,18	1,83
Между процедурами к-во = 20	Среднее значение (Е/л)	СО (Е/л)	КВ (%)
Образец 1	44,0	1,59	3,61
Образец 2	77,0	3,05	3,97
Образец 3	187	3,37	1,80

МЕТОД СРАВНЕНИЯ

Без пиридоксал-5-фосфата

Сравнение между GOT (ACT) Dialab без П-5-Ф (y) и имеющимся в продаже анализом (x), с использованием 78 образцов, дало следующие результаты: $y = 0,98x - 0,51$ Е/л; $r = 0,999$.

С пиридоксал-5-фосфатом

Сравнение между GOT (ACT) Dialab с П-5-Ф (y) и имеющимся в продаже анализом (x), с использованием 80 образцов, дало следующие результаты: $y = 0,97x - 0,79$ Е/л; $r = 0,995$.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Могут быть использованы все контрольные сыворотки со значениями GOT, определяемые данным методом. Рекомендуется:

Ссылка	Содержимое		
D98481	12 x 5 мл	Diacon N	Проверенная контрольная сыворотка норма
D98482	12 x 5 мл	Diacon P	Проверенная контрольная сыворотка патология

КАЛИБРОВКА

Использование GOT калибратора является выборочным. Мы рекомендуем:

Ссылка Содержимое

D98485 5 x 3 мл **DIACAL AUTO** проверенная мультикалибровочная сыворотка

АВТОМАТИЗАЦИЯ

По требованию для автоматизированных анализаторов могут быть проведены специальные адаптации.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Реагенты содержат азид натрия (0,95 г/л) в качестве консерванта. Не глотать! Избегайте контакта с кожей и слизистыми.
2. Следуйте требуемым предостережениям относительно использования лабораторных реагентов.

РЕГУЛИРОВАНИЕ УТИЛИЗАЦИИ ОТХОДОВ

Ссылайтесь на местные требования законодательства.

ЛИТЕРАТУРА

(См. в оригинале инструкции).

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:

ЧМП «ДИАМЕБ»
 Ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005
 Тел.: (0342) 775122
 Тел/факс: (0342) 775612
 E-mail: info@diameb.ua
www.diameb.ua