

GOT (AST) Modifikovaná IFCC

Diagnostická reagence pro kvantitativní in-vitro stanovení GOT (AST) v lidském séru nebo plasmě pomocí fotometrických systémů

REF	Velikost kitu	Obsah
D03115B	1 x 1.25 L	1 x 1 L R1+ 1 x 0.25 L R2
D94610	5 x 100 mL	4 x 100 mL R1+ 1 x 100 mL R2
D98616	5 x 50 mL	4 x 50 mL R1+ 1 x 50 mL R2
D00678	5 x 25 mL	4 x 25 mL R1+ 1 x 25 mL R2
D98617	5 x 10 mL	4 x 10 mL R1+ 1 x 10 mL R2
D72911	10 x 50 mL	10 x 40 mL R1+ 4 x 25 mL R2
D0427917	5 x 62.5 mL	4 x 62.5 mL R1+ 1 x 62.5 mL R2
DA0829	5 x 50 mL	5 x 40 mL R1+ 5 x 10 mL R2
DT1029	4 x 62.5 mL	4 x 50 mL R1+ 4 x 12.5 mL R2
DK0728	5 x 50 mL	4 x 50 mL R1+ 1 x 50 mL R2
DE1829	4 x 62.5 mL	4 x 50 mL R1+ 4 x 12.5 mL R2
DB20322	4 x 62.5 mL	4 x 50 mL R1+ 4 x 12.5 mL R2

Dodatečně nabízené:

D98485	5 x 3 mL	Kalibrátor	Diacal Auto
D98485SV	1 x 3 mL	Kalibrátor	Diacal Auto
D98481	12 x 5 mL	Kontrola normální	Diacon N
D14481	5 x 5 mL	Kontrola normální	Diacon N
D98481SV	1 x 5 mL	Kontrola normální	Diacon N
D98482	12 x 5 mL	Kontrola abnormální	Diacon P
D14482	5 x 5 mL	Kontrola abnormální	Diacon P
D98482SV	1 x 5 mL	Kontrola abnormální	Diacon P

Pouze pro profesionální in vitro diagnostické použití.

OBECNÉ INFORMACE

Metoda:	UV, kinetická, klesající reakce, modifikovaná IFCC
Životnost	15 měsíců od data výroby
Skladování	2 – 8 °C
Vlnová délka:	340 nm, Hg 334 nm, Hg 365 nm
Optická dráha	1 cm
Teplota:	37°C
Vzorek:	Sérum, EDTA plasma, heparinová plasma

ÚČEL POUŽITÍ

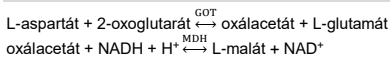
Diagnostická reagence pro kvantitativní in-vitro stanovení GOT (AST) v lidském séru nebo plasmě pomocí fotometrických systémů

DIAGNOSTICKÝ VÝZNAM [1,2]

Alanin aminotransferáza (ALA/ALT), také nazývaná glutamát-pyruvát transamináza (GPT) a aspartát aminotransferáza (ASAT/AST), dříve nazývaná glutamát-oxalacetát transamináza (GOT) jsou nejdůležitějšími zástupci skupiny enzymů aminotransferáz nebo transamináz, které katalyzují proměnu α-keto kyselin na aminokyseliny přenosem aminoskupin.

Zatímco pro játra specifický enzym GPT je významně zvýšen pouze u hepatobiliárních onemocnění, mohou se zvýšené hladiny GOT vyskytnout ve spojení s poškozením srdce nebo kostrových svalů jako i parenchymu jater. Paralelní měření GPT a GOT se proto používá pro rozlišení poškození jater od poškození srdce nebo kostrových svalů. Poměr GOT/GPT se používá pro diferenciální diagnostiku onemocnění jater. Poměry > 1 jsou spojeny se závažným, často chronickými chorobami jater.

PRINCIP TESTU



NADH je oxidováno na NAD⁺, následně pokles v absorpci při 340 nm je přímo úměrný aktivitě GOT ve vzorku.

Toto je modifikovaná formulace pro metodu GOT, jako je doporučeno IFCC (Mezinárodní federace klinické chemie). Referenční metoda IFCC obsahuje pyridoxal-5'-fosfát (P-5-P).

P-5-P slouží jako koenzym při přenosu AA a stabilizuje aktivitu transamináz. Proto přidání P-5-P zabraňuje falešně nízkým hodnotám u vzorků obsahujících nedostatečné množství endogenního P-5-P, např. u pacientů s infarktem myokardu, chorobami jater a u pacientů v intenzivní péči [1].

AA	= Aminokyselina
GOT	= Glutamát oxalacetát transamináza
MDH	= Malát dehydrogenáza
NAD ⁺	= Nikotinamid adenin dinukleotid
NADH	= Redukovaný NAD
LDH	= Laktát dehydrogenáza

SLOŽENÍ REAGENCIE

SLOŽKY	KONCENTRACE
Reagenzie 1	
Tris, pH 7.8	110 mmol/L
L-aspartát	340 mmol/L
MDH	0.5 kU/L
LDH	1.1 kU/L
Reagenzie 2	
2-oxoglutarát	85 mmol/L
NADH	≥ 1 mmol/L

POTŘEBNÉ, ALE NEDODÁVANÉ MATERIÁLY

- Roztok NaCl (9 g/l)
- Klinický chemický analyzátor
- Dialab pyridoxal-5'-fosfát v případě stanovení s P-5-P.

PŘÍPRAVA REAGENCIE

Start substrátem:

Reagenzie jsou připraveny k použití

Start vzorkem:

Smíchejte 4 díly reagenzie1 s 1 dílem reagenzie2 (= pracovní reagenzie)

STABILITA A USKLADNĚNÍ

Podmínky:

Chraňte před světlem.
Zabraňte kontaminaci.
Po použití ihned uzavřete.
Reagenzie nezamrazujte!

Start substrátem

Skladování: při 2 - 8 °C
Stabilita: Do data spotřeby

Start vzorkem (pracovní reagenzie)

Stabilita: při 2 - 8 °C 4 týdny
při 15 - 25 °C 5 dní

Pracovní reagenzie musí být chráněna před světlem!

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Reagenzie obsahují azid sodný (0.95 g/L) jako konzervant. Nepolykejte! Zabraňte kontaktu s pokožkou a sliznicemi.
2. Reagenzie 1 obsahuje zvířecí materiál. S produktem zacházejte jako s potencionálně infekčním podle obecných opatření a postupů správné klinické laboratorní praxe.
3. Ve velmi ojedinělých případech mohou dávat vzorky od pacientů s gamapatií zkrzeslené výsledky [4].
4. Prestudujte si prosím listy bezpečnostních údajů a dodržujte nutná bezpečnostní opatření pro použití laboratorních reagenzií.
5. Pro diagnostické účely je potřebné hodnotit výsledky stále v souvislosti s historií pacienta, klinickým vyšetřením a jinými zjištěními.
6. Pouze pro profesionální použití!

STABILITA VZORKU A SKLADOVÁNÍ [3]

Stabilita [5]:

V séru/plazmě	při 20 – 25 °C	4 dny
	při 4 – 8 °C	7 dní
	při – 20 °C	3 měsíce

Kontaminované vzorky zlikvidujte. Zamrazujte pouze jednou!

POSTUP TESTU

Reagenzie a vzorky přiveďte na pokojovou teplotu.

Poznámka: Pokud se používá pyridoxal -fosfát (P-5-P) prohlédněte si prosím leták s pokyny pro P-5-P před provedením testu (pouze pro start substrátem).

Start substrátem

Do zkumavek napipetovat	37 °C
Reagenzie 1	1000 µl
Vzorek	100 µl
Smíchejte, inkubujte 5 minut. Potom přidejte:	
Reagenzie 2	250 µl
Smíchejte. Změřte počáteční absorpci proti vzduchu po 1 minutě a spusťte stopky. Absorbanci změřte znovu po přesně 1, 2 a 3 minutách.	

Start vzorkem (nepoužívejte start vzorkem s P-5-P)

Do zkumavky napipetovat	37 °C
Pracovní reagenzie	1000 µl
Vzorek	100 µl
Smíchejte. Změřte počáteční absorpci proti vzduchu po 1 minutě a spusťte stopky. Absorbanci změřte znovu po přesně 1, 2 a 3 minutách.	

Automatizace

Speciální adaptace pro automatické analyzátoři je možné vytvořit na požádání

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Výpočet

S faktorem (světelná dráha 1 cm):

Z měření absorpance vypočtete ΔA/min a vynásobte příslušným faktorem:

GOT [U/L] = ΔA/min x faktor

Faktory (37 °C):

Start substrátem:

Faktor při 340 nm	2143
Faktor při 334 nm	2184
Faktor při 365 nm	3971

Start vzorkem:

Faktor při 340 nm	1745
Faktor při 334 nm	1780
Faktor při 365 nm	3235

S kalibrátorem:

$$\text{GOT [U/L]} = \frac{\Delta A / \text{min Vzorku}}{\Delta A / \text{min Kalibrátoru}} \times \text{Koncentrace kalibrátoru [U/L]}$$

Přepočít jednotek

U/L x 0.01667 = μ katal/L

KONTROLA KVALITY A KALIBRACE

Je možné použít všechna kontrolní séra, u kterých byly změněny hodnoty GOT touto metodou.

Doporučujeme sérové kontroly Dialab **Diacon N** (kontrolní sérum s hodnotami v normálním rozsahu) a **Diacon P** (kontrolní sérum s hodnotami v abnormálním rozsahu).

Každá laboratoř by měla zavést nápravné postupy v případě odchylek při stanovení kontrol.

Kalibrace

Použití GOT kalibrátoru je volitelné.

Doporučujeme Dialab multikalibrační sérum **Diacal Auto**.

CHARAKTERISTIKY ČINNOSTI

LINEARITA, ROZSAH MĚŘENÍ

Na automatických systémech je test vhodný pro stanovení aktivit GOT až do 700 U/L.

V případě manuálního postupu je test vhodný pro aktivity GOT, které odpovídají maximálnímu $\Delta A/\text{min} = 0.16$ při 340 nm a 334 nm nebo 0.08 při 365 nm.

Nad touto koncentrací je třeba vzorky zředit 1+9 roztokem NaCl (9 g/L) a výsledky vynásobit 10.

CITLIVOST/LIMIT DETEKCE

Spodní limit detekce je 4 U/L.

PRECIZNOST (při 37 °C)

Bez P-5-P

V rámci analýzy, n=20	Průměr [U/L]	SD [U/L]	CV [%]
Vzorek 1	25.1	0.82	3.25
Vzorek 2	51.3	1.57	3.06
Vzorek 3	116	0.90	0.77

Mezi analýzami, n=20	Průměr [U/L]	SD [U/L]	CV [%]
Vzorek 1	25.7	1.13	4.40
Vzorek 2	48.6	0.67	1.38
Vzorek 3	115	0.80	0.69

S P-5-P

V rámci analýzy, n=20	Průměr [U/L]	SD [U/L]	CV [%]
Vzorek 1	43.6	1.10	2.51
Vzorek 2	74.5	1.79	2.41
Vzorek 3	174	3.18	1.83

Mezi analýzami, n=20	Průměr [U/L]	SD [U/L]	CV [%]
Vzorek 1	44.0	1.59	3.61
Vzorek 2	77.0	3.05	3.97
Vzorek 3	187	3.37	1.80

SPECIFITA/INTERFERENCE

Neruší:

Kyselina askorbová 30 mg/dL

Bilirubin 40 mg/dL

Triglyceridy 2000 mg/dL

Přítomnost hemoglobinu v séru indikuje destrukci erytrocytů s uvolněním GOT, a proto způsobuje vysokou interferenci.

Pro další informace o interferujících látkách viz Young DS [6].

POROVNÁNÍ METOD

S P-5-P

Porovnání mezi testem Dialab GOT (AST) (y) s P-5-P a komerčně dostupným testem (x) s použitím 107 vzorků poskytuje následující výsledky: $y = 0.961x + 4.227$; $r = 0.998$.

Bez P-5-P

Porovnání mezi testem Dialab GOT (AST) bez P-5-P (y) a komerčně dostupným testem (x) s použitím 105 vzorků poskytuje následující výsledky: $y = 0.967x - 0.174$ U/L; $r = 1.000$

NÁVAZNOST

Tato metoda byla standardizována oproti původní IFCC formulaci.

OČEKÁVANÉ HODNOTY*

S P-5-P		U/L	μ katal/L
Ženy [7]		< 31	< 0.52
Muži [7]		< 35	< 0.58
Děti [1]	1 – 3 roky	< 50	< 0.83
	4 – 6 let	< 45	< 0.75
	7 – 9 let	< 40	< 0.67
	10 – 12 let	< 40	< 0.67
	13 – 15 let	< 35	< 0.58
	16 – 18 let	< 35	< 0.58

Bez P-5-P		U/L	μ katal/L
Ženy [8, 9]		< 31 U/L	< 0.52 μ katal/L
Muži [8, 9]		< 35 U/L	< 0.58 μ katal/L

* Každá laboratoř by měla přezkoušet přenositelnost referenčních rozsahů na svou populaci pacientů a v případě potřeby ustanovit vlastní referenční rozsahy.

OMEZENÍ

- Možný přenos GOT (AST), mod. IFCC do reagentie celkový protein v moči/CSF (pyrogalolová červená). Aktuální přenos (carry-over) závisí na analyzátoru.

ODSTRANĚNÍ ODPADU

Postupujte prosím podle místních právních předpisů.

LITERATURA

- Thomas L. Alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST). In: Thomas L, editor. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 55-65.
- Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1999. P. 617-721.
- Bergmeyer HU, Horder M, Rej R. Approved Recommendation (1985) on IFCC Methods for Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes. L. Clin. Chem. Clin. Biochem 1986; 24: 497-510.
- Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. ClinChemLabMed 2007; 45(9): 1240 – 1243.
- Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st e. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 18-9.
- Young DS. Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
- Schumann G, Bonora R, Cerotti F, Féraud G et al. IFCC primary reference procedure for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 5: Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of aspartate aminotransferase. Clin Chem Lab Med 2002; 40: 725-33.
- Lorentz K, Röhle G, Siekmann L. Einführung der neuen Standardmethoden 1994 zur Bestimmung der katalytischen Enzymkonzentrationen bei 37 °C. DG Klinische Chemie Mitteilungen 26; 1995; Heft 4.
- Zawta B, Klein G, Bablok W. Temperature Conversion in Clinical Enzymology? Klin. Lab. 1994; 40: 33-42.

