

UPOTREBA

Reagens se koristi za određivanje aktivnosti enzima aspartat aminotransferaze (AST) u serumu ili plazmi.

METODA

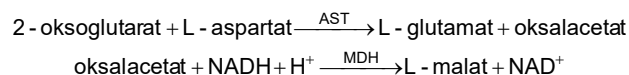
IFCC kinetički, spektrofotometrijski UV metod.

KLINIČKI ZNAČAJ

Aspartat aminotransferaza katalizuje interkonverziju amino grupe amino kiseline i α -keto kiseline. Normalno se u telesnim tečnostima nalaze AST i ALT, ali se ne nalaze u urinu, osim u slučajevima kada postoje lezije u bubregu. Infarkt miokarda dovodi do povećanja nivoa AST u serumu nakon 6-8 sati od pojave bola, dosežući maksimum u toku 18-24 sata, a zatim se vraća na nivo normalnih koncentracija u toku sledećih 4-5 dana. Serumske koncentracije mogu biti veće 15-20 puta od normalnih i rastu proporcionalno povećanju nivoa AST-a u tkivima.

PRINCIP ODREĐIVANJA

Aspartat aminotransferaza katalizuje reakciju transaminacije amino grupe sa L-aspartata na 2-oksoglutarat, pri čemu nastaju L-glutamat i oksalacetat. Oksalacetat se dalje, u prisustvu koenzima NADH uz katalitičko dejstvo MDH, redukuje do L-malata. Brzina oksidacije NADH je direktno proporcionalna aktivnosti AST ^{1,2}.

**REAGENSI**

AST, Ref: AST-250 se sastoji od 2 reagensa:

Reagens 1 (Rg.1)	2 x 100 mL
Reagens 2 (Rg.2)	1 x 50 mL

SASTAV RADNOG REAGENSA

Aktivne komponente :

Tris pufer pH 7,5	80 mmol/L
L-aspartat	240mmol/L
2-oksoglutarat	12 mmol/L
LDH	>1200 U/L
MDH	> 500 U/L
NADH	0,28 mmol/L
Stabilizatori i konzervansi	

UPOZORENJE

1. Koristiti isključivo za dijagnostiku *in vitro*.
2. Voditi računa o propisanoj eliminaciji otpada. Ako se odbacuje u kanalizaciju, isprati velikom količinom vode.
3. Da bi se izbegla kontaminacija koristiti čist pribor ili laboratorijsku opremu za jednokratnu upotrebu.

PRIPREMA REAGENSA

Start uzorkom : radni reagens se priprema mešanjem 4 zapremine Rg.1 i jedne zapremine Rg.2.

Start supstratom : Reagensi su spremni za upotrebu.

STABILNOST REAGENSA

Start uzorkom : radni reagens stabilan je 30 dana ako se čuva na 2 - 8°C.

Start supstratom : reagensi u originalnom pakovanju su stabilni do isteka označenog roka ako se čuvaju na propisanoj temperaturi.

UZORCI

Kao uzorak koristiti nehemolizovan serum ili plazmu pripremljenu sa heparinom ili EDTA.

Stabilnost : 4 dana na 20-25 °C

7 dana na 4-8 °C

3 meseca na -20 °C.

DODATNI POTREBNI MATERIJALI

Opšta laboratorijska oprema i rastvori

- Multikalibrator	Ref: KLB-012	4x3 mL
- Kontrolni serum N	Ref: KSN-020	4x5 mL
- Kontrolni serum P	Ref: KSP-020	4x5 mL

ANALITIČKA PROCEDURA

Analički parametri testa:

Talasna dužina : 1°/2°	340/405 nm
Kiveta :	1 cm
Temperatura :	37° C
Odnos : uzorak / reagens	1 / 10
Reakcija :	Kinetička
Inicijalna A reagensa :	> 1.0 Abs

Start uzorkom - pipetirati u epruvete:

Uzorak	100 µL
Radni reagens	1000 µL

Promešati reakcionu smešu i inkubirati 1 minut na 37°C, izmeriti inicijalnu apsorbanciju (A_0), a zatim meriti promene apsorbancija svakog minuta u toku tri minuta (A_1 , A_2 , A_3) na 340 nm.

Start supstratom - pipetirati u epruvete:

Uzorak	100 µL
Rg.1	800 µL

Promešati, a zatim dodati:

Rg.2	200 µL
------	--------

Promešati reakcionu smešu i inkubirati 1 minut na 37°C, izmeriti inicijalnu apsorbanciju (A_0), a zatim meriti promene apsorbancija svakog minuta u toku tri minuta (A_1 , A_2 , A_3) na 340 nm.

KALIBRACIJA

Za kalibraciju koristiti multikalibrator

Tip kalibracione krive : Linearan

Rekalibraciju vršiti :

- nakon promene serije reagensa

- ukoliko su dobijene vrednosti kontrola izvan prihvatljivog opsega

KONTROLA KVALITETA

Za kontrolu kvaliteta preporučuje se korišćenje kontrolnih seruma.

IZRAČUNAVANJE

$$\Delta A_1 = A_1 - A_0 \quad \Delta A_2 = A_2 - A_1 \quad \Delta A_3 = A_3 - A_2$$

$$\Delta A = (\Delta A_1 + \Delta A_2 + \Delta A_3) / 3$$

$$C = \Delta A \cdot 1746 \text{ (U/L)}$$

Navedena je teorijska vrednost faktora za izračunavanje. Preporuka je da se reagens kalibriše odgovarajućim kalibratorom.

REFERENTNE VREDNOSTI

Odrasli	30° C	37° C
Muškarci	< 25 U/L	< 37 U/L
Žene	< 21 U/L	< 31 U/L

Na referentne vrednosti utiču (pored drugih faktora) starosna struktura i etnički sastav populacije. Zato se preporučuje da svaka laboratorija odredi sopstvene referentne vrednosti.

ANALITIČKE KARAKTERISTIKE TESTA

Parametri validacije su izračunati na osnovu rezultata ispitivanja na analizatorima Roche 902 i Abbott –Alcion.

Opseg merenja

Od 4 do 430 U/L AST-a.

Ukoliko je aktivnost AST-a veća od 430 U/L razblažiti uzorak (1+9) sa fiziološkim rastvorom i rezultat pomnožiti sa 10.

Limit detekcije (LOD) i limit kvantifikacije (LOQ)

LoD = 1,3 U/L

LoQ = 4,0 U/L

Osetljivost određivanja (S)

$S = A/c = 0,57 \Delta mAbs$ po U/L

Interferencije

Na određivanje AST-a ne utiču sledeće supstance:

bilirubin	c < 800 μ mol/L (46,8 mg/dL)
hemoglobin	c < 1,0 g/L
trigliceridi	c < 5,65 mmol/L (500 mg/dL).

Preciznost određivanja

Reproducibilnost unutar serije

Uzorak 1	Xsr = 37,36	Sd = 1,28	KV = 3,42 %
Uzorak 2	Xsr = 137,50	Sd = 1,79	KV = 1,30 %

Reproducibilnost između serija

Uzorak 1	Xsr = 37,36	Sd = 1,65	KV = 4,41 %
Uzorak 2	Xsr = 137,36	Sd = 2,24	KV = 1,63 %

Korelacija

Urađena je komparativna analiza³ između metode firme BIOANALYTICA i komercijalnog testa druge firme na 45 uzorka humanog seruma. Dobijeni su sledeći parametri linearne regresione analize:

Linearna regresija

$$y = 0,9974 x + 0,2274$$

$$r = 0,9995$$

LITERATURA

1. B. Štraus, Medicinska Biokemija, Medicinska naklada Zagreb, 1992.
2. N.W. Tietz, Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1986.
3. H. Passing, W.A. Bablok, A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part I. J Clin Chem and Clin Biochem 21(11), 709-720, 1983.



Bioanalytica d.o.o.
Agostina Neta 84/2, Beograd,
Srbija
www.bioanalytica.rs



Bioscience Medical SL
Velazquez 126, 7AB,
Madrid, Spain



Broj rešenja o upisu : _____