

GOT (ASAT) IFCC mod.

liquiUV Test

Аспартат-аминотрансфераза (EC 2.6.1.1)

Торговая форма

| | | | |
|------------------|-------|------------|----------------|
| REF ⁴ | 12211 | 16 x 5 мл | Полный М-набор |
| | 12011 | 10 x 10 мл | полный набор |
| | 12021 | 8 x 50 мл | полный набор |
| | 12031 | 4 x 250 мл | полный набор |

IVD

Метод

Кинетический метод для определения активности GOT по рекомендации экспертов Международной Федерации Клинической Химии (IFCC).

Принцип реакции

α -кетоглутарат+L-аспартат $\xrightarrow{\text{GOT}}$ L-глутамат+оксалацетат

оксалацетат+НАДН+H⁺ $\xrightarrow{\text{МДН}}$ L-малат+НАД⁺

Действующие составные части

| | | | | |
|-----|----------------------------------|---------------|-----------|------------|
| REF | 12211 | 12011 | 12021 | 12031 |
| ENZ | 16 x 4 мл | 10 x 8 мл | 8 x 40 мл | 4 x 200 мл |
| SUB | 1 x 16 мл | 2 x 10 мл | 8 x 10 мл | 4 x 50 мл |
| ENZ | Буфер/ ферментный реагент | | | |
| | TRIS буфер (pH 7,8) | 100 ммоль/л | | |
| | L-аспарагиновая кислота | 290 ммоль/л | | |
| | ЛДН | ≥ 10 кЕ/л | | |
| | МДН | ≥ 0,5 кЕ/л | | |
| SUB | Субстрат | | | |
| | α -кетоглутарат | 65 ммоль/л | | |
| | НАДН | 0,001 ммоль/л | | |

Подготовка реагентов и стабильность

Метод 1 с запуском реагентом

Реагент готов к употреблению.

Реагенты могут сохраняться в защищенном от света месте при 2...8°C даже после вскрытия упаковки до указанного срока годности. Ни в коем случае не допускать загрязнения реагентов.

Метод 2 с запуском пробой

REF 12031 и 12021: Содержимое одного флакона [SUB] добавить полностью к содержимому флакона [BUF], основательно перемешать.

REF 12211: 1 мл из флакона [SUB] пипетировать в флакон [BUF] и основательно перемешать.

REF 12011: 2 мл из флакона [SUB] пипетировать в флакон [BUF] и основательно перемешать.

Рабочий раствор сохраняется 4 недели при 2...8°C и 5 дней при 15...25°C.

Исследуемый материал

Сыворотка, ЭДТА- или гепарин-плазма.

Гемолиз мешает проведению анализа!

Падение активности за 3 дня: при +4°C: ~ 8%
при +20...25°C: ~ 10%

Условия определения

Длина волны: Hg 365 нм, 340 нм или Hg 334 нм

Длина оптического пути: 1 см

Температура измерения: 25°C, 30°C, 37°C

Измерение: против воздуха (падение экстинкции)

Реагенты и кюветы подогреть перед измерением до желаемой температуры и во время теста поддерживать температуру постоянной ($\pm 0,5^\circ\text{C}$).

Схема пипетирования 1 с запуском субстратом*

| | | |
|-----------------------|------------|----------|
| В кюветы пипетировать | 25°C, 30°C | 37°C |
| Проба | 200 мкл | 100 мкл |
| [BUF] | 1000 мкл | 1000 мкл |

Перемешать и инкубировать 5 минут при желаемой температуре

| | | |
|-------|---------|---------|
| [SUB] | 250 мкл | 250 мкл |
|-------|---------|---------|

Перемешать и измерить экстинкцию через 1 минуту и одновременно стартовать секундомер. Повторить измерение точно через последующие 1, 2 и 3 минуты.

Схема пипетирования 2 с запуском пробой*

| | | |
|-----------------------|------------|----------|
| В кюветы пипетировать | 25°C, 30°C | 37°C |
| Проба | 200 мкл | 100 мкл |
| рабочий раствор | 1000 мкл | 1000 мкл |

Перемешать, через 1 мин. измерить экстинкцию и одновременно стартовать секундомер. Повторить измерение точно через последующие 1, 2 и 3 минуты.

* Полумикрометод; для макро-метода объем удвоить

Расчёт

Если $\Delta E/\text{мин}$ составит 0,06-0,08 (Hg 365 нм) или 0,12-0,16 (Hg 334 нм, 340 нм), то учитывать измерение только в первые 2 минуты (1 мин. инкубировать и 2 минуты измерять)

Метод 1 с запуском субстратом

| | | | |
|--|-----------|--------|-----------|
| | Hg 334 нм | 340 нм | Hg 365 нм |
| Ед/л (25°C, 30°C) = $\Delta E/\text{мин} \times$ | 1173 | 1151 | 2132 |
| Ед/л (37°C) = $\Delta E/\text{мин} \times$ | 2184 | 2143 | 3971 |

Метод 2 с запуском пробой

| | | | |
|--|-----------|--------|-----------|
| | Hg 334 нм | 340 нм | Hg 365 нм |
| Ед/л (25°C, 30°C) = $\Delta E/\text{мин} \times$ | 971 | 952 | 1765 |
| Ед/л (37°C) = $\Delta E/\text{мин} \times$ | 1780 | 1745 | 3235 |

Коэффициент пересчёта традиционных единиц (Ед/л) в единицы СИ (кат/л):

1 Ед/л = $16,67 \times 10^{-3}$ мккат /л

1 мккат/л = 60 Ед/л

Характеристика теста

Линейность

Граница разведения лежит при следующей разнице экстинкции ($\Delta E/\text{мин}$) или активности:

| | | | |
|---------------|-----------------------------------|------------|----------|
| | | 25°C, 30°C | 37°C |
| Hg 365 нм | $\Delta E/\text{мин} = 0,080$ или | 170 Ед/л | 320 Ед/л |
| Hg 334/340 нм | $\Delta E/\text{мин} = 0,160$ или | 190 Ед/л | 350 Ед/л |

При более высоких активностях необходимо смешать 0,1 мл пробы с 0,9 мл раствора хлористого натрия (0,9%) и повторить определение с использованием этого раствора (результат умножить на 10).

Высокоактивные сыворотки могут давать чрезвычайно низкую начальную экстинкцию, так как большая часть НАДН будет израсходована уже до начала измерения. В таком случае провести разведение, как указано выше.

Типичные данные приведены в Верификационном репортаже через интернетный адрес:

www.human.de/data/gb/vr/en-gotli.pdf или

www.human-de.com/data/gb/vr/en-gotli.pdf

Нормальные значения

| | | | |
|-------------|------------|------------|------------|
| Температура | 25°C | 30°C | 37°C |
| Мужчины | до 18 Ед/л | до 25 Ед/л | до 37 Ед/л |
| Женщины | до 15 Ед/л | до 21 Ед/л | до 31 Ед/л |

Контроль качества

Можно использовать все контрольные сыворотки, в которых заданные значения GOT определены данным методом. Мы рекомендуем наши контрольные сыворотки HUMATROL, изготовленные из животной сыворотки или SERODOS основе человеческой сыворотки.

Автоматизация

Предложения по аппликации реагентов на автоматические системы предоставляются в распоряжение по требованию. Проверка аппликации находится под ответственностью лаборатории.

Примечание

[BUF] и [SUB] содержат в качестве консерванта азид натрия (0,095%). Не допускать проглатывания, соприкосновения с кожей и слизистыми оболочками!

Литература

- Clin. Chim. Acta 70, 19 - 42 (1976)
- Synopsis der Leberkrankheiten: H. Wallnöfer, F. Schmid and F.W. Schmidt, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974
- Thefeld, W. et al.; Dtsch. med. Wschr. 99, 345 (1974)
- ISO 15223 Medical devices - Symbols to be used with medical device labels

EN-GOTLI
INF 1221101 R
08-2002-13



Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH
Max-Planck-Ring 21 - D-65205 Wiesbaden - Germany
Telefon: +49 6122 9988 0 - Telefax: +49 6122 9988 100 - eMail: human@human.de