کیت سنجش AST (GOT)

**(IFCC Method)**

**REF:** PA16001-400 R1 4 x 80 mL / R2 1 x 80 mL
**REF:** PA16001-300 R1 3 x 80 mL / R2 1 x 60 mL
**ISO:** 13485:2016

**مقدمه:**

آنـــزیم اسپارتات آمینوترانسفراز (AST ) کــه پــیش از ایـــن گلوتامات اگزالواستات ترانسفراز (GOT) نامیده میشد، به صورت برگشت پذیر انتقال یک گروه آمینی را از آسپارتات به آلفا کتو گلوتارات واسطه گری و تسریع می نماید که در نتیجه گلوتامات و اگزالات تولید می شوند . ایـن آنزیم در غلظت بالا در قلب، کبد، ماهیچه‌ها، کلیه و اریتروسیتها یافت می‌شود. بنابراین آسیب یا بیماری در هریک از این اندامها مانند: صدمات قلب، هپاتیت ویرال، سیروز و آتروفی ماهیچـه‌هـا سطح آنرا بالا میبرد.

اندازه گیـری همزمـان AST وALT بـرای تشـخیص آسـیب‌هـای قلبـی و ماهیچه‌ای از آسیب‌های کبدی مورد استفاده قرار مـی‌گیـرد. نسـبت AST/ALT در تشـخیص افتراقی بیماریهای کبدی مهم است، اگر نسبت آنها کمتراز **یک** باشد، نشان دهنده آسیب خفیف کبد و اگر بیشتر از **یک** باشد، آسیب شدید را تأیید میکند.

روش : **IFCC Method/NADH,Kinetic UV without Pyridoxal phosphate**

**اصول آزمایش:**

این‌کیـت براساس پیشـنهادات (International Federation of Clinical Chemistry) IFCC ولی بدون استفاده از پیریدوکسال فسفات تهیه شده که طبق مراحل زیر انجام میشود:

$$\text{L-Aspartate} + \alpha\text{-Ketoglutarate} \xrightarrow{\text{AST}} \text{Glutamate} + \text{Oxaloacetate}$$

$$\text{Oxaloacetate} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow[\text{LDH}]{\text{MDH}} \text{L-Malate} + \text{NAD}^+$$

**محتویات کیت:**

| Reagent Bottle | Description | Content |
|---|---|---|
| R1 | TRIS Buffer pH 7.8 | 80 mmol/L |
| | L-Aspartate | 200 mmol/L |
| | Malate Dehydrogenase (MDH) | 600 U/L |
| | Lactate Dehydrogenase (LDH) | 800 U/L |
| R2 | NADH | 0.18 mmol/L |
| | α-Ketoglutarate | 12 mmol/L |

**نمونه مورد آزمایش:**

سرم تازه بدون همولیز و غیر لیپمیک یا پلاسمای هپارینه یا EDTA دار. پایداری آنزیم AST(GOT) در نمونه و در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد یک هفته میباشد و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد برای مدت ۱ ماه می‌باشد.

**آماده سازی محصول:**

**تهیه محلول برای حالت دو محلول جدا از هم**(Substrate Start) : معرفهای R1 و R2 بصورتی که جداگانه مورد استفاده قرار گیرند (Substrate Start )آماده مصرف می‌باشند.

**تهیه محلول کار آماده بـرای تـک محلـول**(Sample Start) : بسـته بـه نیـاز ۴ قسـمت از معرف R1 را با یک قسمت از معرف R2 مخلوط نمایید، (برای مثال ۸ میلی‌لیتر معـرف (R1) را با ۲ میلی‌لیتر معرف (R2) به آرامی مخلوط کنید). پایداری این محلـول کـار ۱ روز در دمـای ۱۵-۲۵ درجه سانتیگراد و ۷ روز در دمای ۲-۸ درجه سانتیگراد می‌باشـد. محلـول را دور از نـور نگهداری نموده و از آلوده شدن آن خودداری شود.

**مواد و وسایل مورد نیاز:**

۱-کووت مناسب با قطر یک سانتیمتر
۲- اسپکتروفتومتر یا کالریمتر با قابلیت اندازه گیری در دامنه ۳۴۰ نانومتر
۳- بن ماری ۳۷ درجه سانتیگراد ( ۰/۱ درجه سانتیگراد )
۴- سمپلر دقیق و کالیبره شده
۵- نوک سمپلر نو و تمیز زرد و آبی
۶- دستگاههای عمومی آزمایشگاه
۷-استاندارد یا کالیبراتور معتبر ( میتوان از مولتی کالیبراتور عرضه شده توسط شرکت پارس پیوند پویش استفاده نمود.)

**نگهداری و پایداری:**

- معرف ها در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد تا تاریخ انقضاء مندرج برروی ویالها پایدار می باشند، مشروط بر اینکه درب ویالها بسته و آلوده نگردند. پایداری معرف کار بروی اتوآنالایزرهای مجهز به سیستم سردکننده یا یخچال ۷ روز و یا ۱ روز در دمای اتاق ۲۵-۱۵ درجه سانتیگراد است و با تغییر هر لات کالیبراسیون تجدید شود.
- از یخ زدگی معرفها پرهیز شود .
- معرفها (R2 و R1 ) را دور از نور نگهداری نمایید .
- کدورت یا اجزاء خارجی در این معرف باعث افزایش جذب نوری بلانـک بیشـتر از ۱ در طـول موج ۰۴۳ نانومتر میگردند که از علائم تخریب معرف میباشد.

**روش انجام آزمایش:**

**پارامترها**: **دما**: ۳۷ درجه سانتیگراد / **طول موج**: ۳۴۰ نانومتر / **کووت**: یک سانت / **خوانش**: مقابل هوا یا آب مقطر / **نوع واکنش**: کاهشی

**تک محلول:** Sample Start

| | |
|---|---|
| نمونه | ۱۰۰ میکرولیتر |
| محلول کار آماده | ۱۰۰۰ میکرولیتر |
| پس از مخلوط نمودن مقدار جذب نوری را در ۳۴۰ نانومتر بعد از ۱ دقیقه اندازه گیری نمایید، کرنومتر را بکار انداخته و دقیقاً پس از ۲،۱ و۳ دقیقه اختلاف جذب نوری را از دقیقه قبل تعیین نمایید. A/minΔ | |

**دو محلول:** Substrate Start

| | |
|---|---|
| نمونه | ۱۰۰ میکرولیتر |
| معرف R1 | ۱۰۰۰ میکرولیتر |
| مخلوط کرده، برای مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ °C انکوبه نمایید سپس معرف R2 اضافه شود: | |
| معرف R2 | ۲۵۰ میکرولیتر |
| پس از مخلوط نمودن،جذب نوری را در ۳۴۰ نانومتر پس از ۱ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد اندازه گیری نمایید، کرنومتر را بکار انداخته و دقیقاً پس از ۲،۱و۳ دقیقه اختلاف جذب نوری را از دقیقه قبل تعیین شود. A/minΔ | |

**کنترل کیفی:**

جهت کنترل کیفی میتوان از سرم کنترل های معتبر که توسط شرکت پارس پیوند پویش عرضه می شود استفاده نمود.

**ضریب تبدیل واحد معمول (conventional) به واحد بین المللی(SI ) و بلعکس :**

**درهر دو حالت واحد سنجش. U/L میباشد**

| |
|---|
| **Conventional unit U/L** |
| **SI unit U/L** |

**خصوصیات علمی کیت:**

**۱- محدوده اندازه گیری:**

ماکزیمم حد سنجش: 300 U/L

حساسیت: 1.0 U/L ( 0.00051 mA/min per U/L )

**توجه:**

- نمونه های بیش از 300 U/L را به نسبت۹ +۱ با سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد NaCl رقیق نموده ، آزمایـش راتکرار و نتیجه را در عدد ۱۰ ضرب نمایید.
- جهت انجام این آزمایش از پیپت های شیشه ای تمیز و نوک سمپلر نو استفاده شود.

۲- **صحت:** در مقایسه با کیت و کنترلهای معتبر مشابه

$y=1.0164X + 0.427$ $R^2=0.9902$

۳- **دقت:**

INTRA ASSAY (WITHIN-RUN) (n=20)

| | Mean (U/L) | S.D. (U/L) | CV% |
|---|---|---|---|
| Sample I | 49 | 1.47 | 3.0 |
| Sample II | 230 | 1.84 | 0.8 |

INTER ASSAY (Between RUN) (n=20)

| | Mean (U/L) | S.D. (U/L) | CV% |
|---|---|---|---|
| Sample I | 46 | 1.84 | 4.0 |
| Sample II | 222 | 6.43 | 2.89 |

✓ پارامترهای این کیت برای آنالایزرهای مختلف موجود است لطفاً جهت دریافت با بخش فنی شرکت پارس پیوند پویش تماس حاصل فرمائید.

**محاسبه با استفاده از کالیبراتور:**

$$AST_{(U/L)} = \frac{\Delta A_{Sample/min.}}{\Delta A_{Cailb/min.}} \times Calib.\ Conc.$$

**محاسبه:** با استفاده از فاکتور $AST\ (U/L) = \Delta A/min \times 1862$

با توجه به دستگاه اسپکتروفتومتر در هر آزمایشگاه و مقدار خطای سیستمیک دستگاه ممکن است مقدار فاکتور تغییر کند.

**مقادیر طبیعی:**

| | |
|---|---|
| مردان : | < 38 U/L |
| زنان : | < 31 U/L |

❊ توصیه می شود هر آزمایشگاه مقادیر طبیعی مربوط به محدوده جمعیتی خود را تعیین کند.❊

**احتیاط در هنگام کار :**

کلیه موارد ایمنی معمول در آزمایشگاه در هنگام کار با محلولها رعایت گردد و از وسایل حفاظت فردی استفاده شود.

**دفع پسماند :**

براساس دستورالعمل های وزارت بهداشت ، درمان و آموزش پزشکی عمل شود .

**تداخلات :**

بیلی روبین تا 20 mg/dl ، هموگلوبین تا 180 mg/dl ، تری گلیسرید تا 1000 mg/dll تاثیری بر نتیجه آزمایش ندارند.

REFERENCES:


MurrayR. Aspartate aminotransferase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1112-116 .

Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, . 1995

Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001 . .

Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999

Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 199