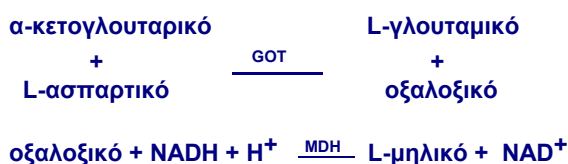


ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η δραστηριότητα του ενζύμου ασπαρτική αμινοτρανσφεράση (GOT) προσδιορίζεται κινητικά σύμφωνα με τις προδιαγραφές της Διεθνούς Εταιρείας Κλινικής Χημείας (IFCC). Η παρουσία του ενζύμου καταλύει την μεταφορά μιας αμινομάδας από το μόριο του L-ασπαρτικού στο μόριο του α-κετογλουταρικού οξέος. Το παραγόμενο οξαλοξικό οξύ παρουσία του ενζύμου μηλική αφυδρογονάση (MDH) ανάγεται προς L-μηλικό οξύ με ταυτόχρονη οξειδωση του συνενζύμου NADH σε NAD. Η ελάττωση της απορρόφησης στα 340 nm είναι ανάλογη της δραστηριότητας της GOT στο δείγμα.



ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ

Εως 45 U/L (37°C)

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

R1. Ρυθμιστικό διάλυμα
R2. Διάλυμα NADH

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ (παρ.1).

Εξαρτάται από τον τύπο του αναλυτή

α) Χρήση μονού αντιδραστήριου:

Αναμίξτε τα δύο αντιδραστήρια σε αναλογία
4 μέρη R1 με 1 μέρος R2.
(π.χ. 4 ml R1 + 1 ml R2).

β) Χρήση διπλού αντιδραστήριου:

Τα αντιδραστήρια χρησιμοποιούνται ως έχουν.

ΤΕΛΙΚΕΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ

Ρυθμιστικό διάλυμα Tris 80mM, PH 7.8, NADH 0.18mM, L-ασπαρτικό 240 mM, MDH > 400 U/L, LDH > 600 U/L, α-κετογλουταρικό 12 mM.

ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Αναγράφεται στο set σε θερμοκρασία 2-10°C. Σταθερότητα διαλύματος εργασίας, τουλάχιστον 15 ημέρες σε θερμοκρασία 2-10°C.

ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΜΕΝΟ ΔΕΙΓΜΑ

Ορός μη αιμολυμένος.
Σταθερότητα της GOT στο δείγμα 48 ώρες σε θερμοκρασία 15-30°C ή 3 ημέρες σε θερμοκρασία 2-10°C.

ΜΕΘΟΔΟΣ

Μήκος κύματος : 340 nm
θερμοκρασία : 37°C
κυψελίδα : 1 cm
Μεταφέρατε **1ml** από το διάλυμα εργασίας σε σωληνάριο και επώαστε στους 37°C για 3 min.

- Προσθήκη :

Ορός	:	0.1 ml
-------------	---	---------------

Ανάδευση σε vortex και άμεση αναρρόφηση στο φωτόμετρο.

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ

Με τις παραπάνω συνθήκες ο συντελεστής (factor) έχει τιμή 1746 και η δραστηριότητα του ενζύμου υπολογίζεται από την σχέση:

$$\text{GOT (U/L)}_{37^\circ\text{C}} = \text{ΔA/min} \times 1746$$

ΓΡΑΜΜΙΚΟΤΗΤΑ

Μέχρι 700 U/L (manual 300 U/L) ανάλογα με τον τύπο του αναλυτή.

CALIBRATOR/ ΟΡΟΙ ΕΛΕΓΧΟΥ (Δεν παρέχονται με το kit)

Biomultical, Bionorm, Biopath

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

1. Το NADH είναι εξαιρετικά ευαίσθητο σε οξειδωτικούς παράγοντες, γι αυτό κάθε σκεύος που χρησιμοποιείτε, φροντίζετε να είναι σχολαστικά καθαρό.
2. Ανεξάρτητα εάν η θερμοκρασία της κυψελίδας του φωτομέτρου είναι στους 37°C, ο χρόνος επώασης δεν επαρκεί ώστε να ανέλθει και το διάλυμα στη θερμοκρασία αυτή, ειδικά εάν είναι ψυχρό. Λαμβάνοντας υπόψη ότι 1°C διαφορά θερμοκρασίας προκαλεί σφάλμα περίπου 10%, για καλύτερη επαναληπτικότητα είναι αναγκαίο να προεπιβάλλεται το διάλυμα εργασίας.
3. Οι επί μέρους παράμετροι του προσδιορισμού, χρόνος προεπιώασης, χρόνος επώασης, όρια ελέγχου τυφλού κ.τ.λ. εξαρτώνται από τον τύπο του φωτομέτρου. Για λεπτομερή προγράμματα παρακαλούμε συμβουλευτείτε την εταιρεία μας.
4. Εάν η δραστηριότητα του ενζύμου είναι εκτός των ορίων γραμμικότητας της μεθόδου αραιώστε το δείγμα με φυσιολογικό ορό σε αναλογία 1:9 (0.1 ml ορός + 0.9 ml NaCl 0.9%) επαναλάβετε τον προσδιορισμό και πολλαπλασιάστε τα αποτελέσματα επί 10.

ΤΕΧΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Γραμμικότητα: Η Αντίδραση είναι γραμμική στην περιοχή συγκεντρώσεων από 4-700 U/L

Αναλυτική ευαισθησία (Όριο ανίχνευσης):

Το όριο ευαισθησίας του προσδιορισμού υπολογίστηκε ότι αντιστοιχεί με 4 U/L

Πιστότητα (Precision):

Επαναληψιμότητα (Repeatability):

A. Δεδομένα εντός του αυτού κύκλου ανάλυσης:

Αριθμός δειγμάτων	Μέση Τιμή	SD U/L	CV %
10	47	1,05	2,23
10	185	3,48	1,87
10	204	2,44	1,19

Αναπαραγωγιμότητα (Reproducibility):

B. Δεδομένα διαφόρων κύκλων και ημερών ανάλυσης:

Αριθμός δειγμάτων	Μέση Τιμή	SD U/L	CV %
14	49.8	2,87	5,76
21	118	5,15	4,36
19	203	9,84	4,84

Παρεμποδισεις αλληλοεπιδράσεις (Interference):

Δεν παρουσιάζουν σημαντική αναστολή μέχρι τα αναφερόμενα όρια

Παρεμποδιστής	Έκφραση σε	Όρια mg/dl
Αιμόλυση	Αιμοσφαιρίνη	~60
Θολερότητα	Τριγλυκερίδια	~500
Ίκτερος	Χολερυθρίνη	~70

Και η ελάχιστη ορατή αιμόλυση προκαλεί λανθασμένο θετικό αποτέλεσμα λόγω του ότι το ένζυμο περιέχεται στα ερυθρά αιμοσφαίρια.

Ανάλυση παλινδρόμησης (Regression Analysis):

Μέθοδος: Γραμμική παλινδρόμηση (Linear Regression)

Αριθμός Δειγμάτων : 39

Όρια συγκέντρωσης : 18-187 U/L

Σχέση : $y = -2,11 + 1,05 x$

Όπου y η παρούσα μέθοδος και x παρεμφερής μέθοδος προσδιορισμού.

Συντελεστής συσχέτισης $r = 0,997$

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Bergmeyer H.U. et al Clin.Chem.Acta 70 (1976) F19-42

Bergmeyer H.U. et al Clin.Chem.Acta 80 (1977) F21-22

Bergmeyer H.U. et al Clin.Chem. 24 58-73(1978)

ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ

R1 : 3 x 40 ml R2 : 1 x 30 ml