MEDICHEM
MIDDLE EAST
Clinical Chemistry Reagents
Liquid Stable Reagents

الإجراء اليدوي

الخمائر الناقلة للأمين SGOT/AST

طريقة لونية حركية , تعتمد على توصيات الـ IFCC.

Cat. No. 17121	R1	1 x	40 ml
من أجل 50 تحليل	R2	1 x	10 ml
Cat. No. 17122	R1	4 x	40 ml
من أجل 200 تحليل	R2	1 x	40 ml

كاشف سائل

مبدأ الاختبار:

$$\text{L-aspartate} + \alpha\text{-ketoglutatrate} \xrightleftharpoons{GOT} \text{L-glutamate} + \text{oxaloacetate}$$

$$\text{Oxaloacetate} + \text{NADH} + H^+ \xrightleftharpoons{MDH} \text{L-malate} + NAD^+$$

يقوم الأنزيم الناقل للأمينSGOT/AST بدور وسيط في تفاعل عكوس بتحويل زمرة الأمين من L-aspartate إلى α-ketoglutarate لينتج كلاً من L-glutamate و oxaloacetate, خميرة Malate dehydrogenase (MDH)كوسيط تحفز ارجاع الـ Oxaloacetate إلى L-malate بشكل متزامن مع أكسدة NADH إلى NAD. و الذي يقاس عند طول موجة 340 نانومتر. معدل التناقص في الامتصاصية اللونية تتناسب مع فعالية الخمائر الناقلة للأمين SGOT/AST في العينة.

تركيب الكاشف :

Reagent R1		
Buffer Tris, pH 7,5	125	mmol/L
L-aspartate	290	mmol/L
LDH	≥0.9	U/L
MDH	≥0,6	U/L
Detergent, preservative.		
Reagent R2		
NADH	0,18	mmol/L
α-ketoglutarate	15	mmol/L
Detergent, preservative.		

ثباتية الكاشف و تحضير محلول العمل:

كاشف R1: سائل.
كاشف R2: سائل.
كل الكواشف ثابتة خلال فترة الصلاحية المثبتة على اللصاقة عند التخزين في الدرجة 2– 8 مْ.

محلول العمل: (4+1)

تضيف4 أحجام من كاشف R1 إلى حجم واحد من كاشف R2. نمزج بلطف. محلول العمل ثابت مدة 3 أيام في الدرجة 2- 8 مْ.

ملاحظة:

إذا كنت امتصاصية محلول العمل بدون عينة عند طول موجة 340 نانومتر ضد الماء المقطر أقل من 0.800 فيجب استبعاد الكاشف.

جمع العينة و حفظها:

1 - عينة غير منحلة من المصل أو بلازما EDTA .
2 - الخمائر الناقلة للأمين SGOT/AST ثابتة في المصل لمدة:
7 أيام في الدرجة 2-8 مْ.

المعايرة:

مصل معياري عام — MediCal U Cat .No 15011

ضبط الجودة:

مصل شاهد طبيعي — Meditrol N Cat .No 15171
مصل شاهد مرضي — Meditrol P Cat .No 15181

الإجراء:

طول الموجة (فوتومتر)	Hg 340nm (334, 365nm)
طول الموجة (سبكتروفوتومتر)	340nm
حجرة القياس	المسار الضوئي 1 cm
درجة الحرارة	37 °C
القياس	مقابل الماء المقطر أو الهواء
التفاعل	حركي - متناقص

التحليل: أحضن محلول العمل في الدرجة 37 م قبل الاستعمال

العينة	50 µl
محلول العمل	1000 µl
امزج بشكل جيد و احضن مدة 2 دقيقة في الدرجة 37 مْ. أقرأ التغير في الامتصاصية الضوئية كل دقيقة خلال 3 دقائق, احسب تغير الامتصاصية الوسطي (ΔA/min) مقابل الماء المقطر أو الهواء .	

الحساب:

لحساب فعالية الخمائر الناقلة للأمين SGOT/AST :
فعالية الخمائر الناقلة للأمين SGOT/AST (U/L) = ΔA/min X الفاكتور

عامل المعايرة (F):

طول الموجة	334 nm	340 nm	365 nm
37°C	3400	3376	6176

ملاحظة:

من المقترح لكل مخبر (بحسب كفاءة الجهاز المستخدم) أن يستخرج عامل المعايرة (F) الخاص به باستخدام محلول معايرة حسب العلاقة التالية:

$$F = \frac{Conc_{calibrator}}{\Delta A/\min_{Calibrator}}$$

الخطية:

طول الموجة	334 nm	340 nm	365 nm
37°C	370 U/L	400 U/L	410 U/L

العينة ذات النتيجة أعلى من المذكور أعلاه يجب أن تمدد بمحلول كلور الصوديوم 0.9% (محلول فيزيولوجي) بنسبة (1+10) و بإعادة التحليل نضرب النتيجة بـ11.
العينة عالية الفعالية تعطي في بعض الأحيان قيمة منخفضة من تغير الامتصاصية الوسطي (ΔA/min) وذلك نتيجة الاستهلاك الكامل لـ NADH في الدقيقة الأولى قبل القياس وبالتالي تكون النتيجة خاطئة, في هذه الحالة مدد العينة بمحلول فيزيولوجي كما ورد سابقاً.

التداخلات:

1 - يتداخل الإنحلال مع الإختبار لوجود خميرة SGOT في الكريات الحمراء و بالتالي أعطاء نتائج مرتفعة خاطئة.
2 - وجد أن الشحوم بحدود 400 mg/dl تتداخل بشكل ملحوظ في هذا التحليل.
3 - البيليروبين حتى التركيز 20 mg/dl و الخضاب حتى 400 mg/dl تؤثر بقيم مهملة على التحليل.
4 - المريض المصاب بنقص فيتامين بي 6 الحادّ يمكن أن يبدي نقصان في استرداد AST المفترض وجوده بسبب قلة فوسفات البيريدوكسال
5 - انظر في كتاب Young *et. al.* من اجل جداول إضافية لتداخل المواد.

التحذيرات:

يحتوي الكاشف على أزيد الصوديوم كمادة حافظة. و من المحتمل أن يرتبط مع أملاح النحاس أو الرصاص ليشكل أزيدات المعادن المتفجرة, لذلك بعد طرح الكاشف المستخدم اغسل بكمية كبيرة من الماء لمنع ارتباط الأزيد.

المجال الطبيعي:

حديثي الولادة	1 يوم	< 122 U/L
	2 – 5 يوم	< 110 U/L
الرّضع	6 يوم – 6 شهر	< 84 U/L
	7 – 12 شهر	< 89 U/L
الأطفال	1 – 3 سنة	< 56 U/L
	4 – 6 سنة	< 39 U/L
	7 – 12 سنة	< 50 U/L
13 – 17 سنة	نساء	< 27 U/L
	رجال	< 35 U/L
بالغون	نساء	< 31 U/L
	رجال	< 37 U/L

المراجع:

1. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Co., p 674 (1982).
2. Horder, M., Bowers, G.N. Jr., Clin. Chem. 23:551 (1977).
3. Henry, R.J., Clinical Chemistry: Principles and Technics, 2nd Ed., Hagerstown (MD), Harper & Row, P882(1974).
4. Kaplan, L.A., Pesce, A.J., Clinical Chemistry, St. Louis, C.V. Mosby, p.911-912(1989).
5. Clin. Chim. Acta 105 (1980), 142-172.
6. Young, DS., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, fifth edition 2000, AACC Press, Washington, D.C.
7. Approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 2. IFCC method for alanine aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1986; 24: 48 1-95. Part 3. IFCC method for aspartate aminotransfe-rase. Clin Chem Clin Biochem 1986; 24: 497-510.
8. German Society for Clinical Chemistry. Recommendation of carrying out standard ECCLS procedures (1988). for the catalytic concentrations of creatine kinase, aspartate amino-transferase, alanine aminotransferase and y-glutamyltransferase at 37 0C. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1993; 31: 901-9.