

**DAC-SpectroMed s.r.l.**  
MD-2012, Moldova, г. Кишинев, ул. Армянская, 47, кв. 64  
Тел.: /+37322/ 574900, 574922/23; факс: /+37322/ 574920  
Email: office@dacspectromed.com  
www.dacspectromed.com  
PT MD 11-38623324-002:2002

## AST - DAC АСПАРТАМИНОТРАНСФЕРАЗА ФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ПО РАЙТМАНУ-ФРЕНКЕЛЮ

Только для диагностики «in vitro»  
Хранить при 2-8°C

Код 2023A1200 400 определений

### ПРИНЦИП МЕТОДА

Аспартаминотрансфераза (AST) катализирует обратимый перенос аминокетогрупп аспарагина на α-кетоглютарат посредством реакции, описанных ниже. Активность AST пропорциональна содержанию динитрофенилгидразона, измеренному при длине волны 500-550 nm.



Пируват + 2,4-динитрофенилгидразин → динитрофенилгидразон

### СОСТАВ НАБОРА

Reagent A	pH 7,4
L-аспарат	0,1 mmol/l
α-кетоглютаровая кислота	2 mmol/l
Фосфатный буфер	0,1 mol/l
Reagent B	
2,4-динитрофенилгидразин	1 mmol/l
Reagent C	
Гидроксид натрия	2,0 mol/l
Reagent S	2,5 ml
Калибровочный раствор пирувата	2,0 mmol/l

### ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

Реагенты стабильны при 2-8°C до срока, указанного на этикетке.  
В Reagent C допускается выпадение осадка.

### ОБРАЗЦЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Негемоллизированная сыворотка.  
AST в сыворотке при 2-8°C стабильна 7 дней.

### РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

0,10-0,45 mmol/h x l = 28-125 nmol/s x l = 1,7 - 7,5 IU/l  
Данные величины ориентировочны, рекомендуется определение собственных референтных значений в каждой лаборатории.

### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для контроля хода реакции и процедуры измерения рекомендуется использовать нормальные и патологические контрольные сыворотки.

Каждая лаборатория должна установить собственную внутреннюю систему контроля качества.

### ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

Анализатор, спектрофотометр, фотометр с фильтром 500-550 nm.  
Термостат или баня водяная 37°C.  
Дозаторы на 25,0 µl, 0,25 ml и 2,5 ml. Секундомер.

### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Данный набор предназначен только для диагностики in vitro.  
Образцы анализов пациентов должны рассматриваться как потенциально опасные и обрабатываться как инфекционные.  
При использовании набора следует соблюдать правила безопасности при работе с едкими и ядовитыми веществами.

### ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧИХ РЕАГЕНТОВ

Reagent A, Reagent B и Reagent S готовы к использованию.  
Приготовление 0,4 M NaOH: Reagent C количественно разбавить в мерной колбе дистиллированной водой, свободной от карбонатов, до объема, указанного на этикетке.  
Хранить в полиэтиленовом сосуде и использовать до появления осадка.

### ПРОЦЕДУРА ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Постановка параллельных проб обязательна!

Метод: по Райтману-Френкелю  
Длина волны: 500-550 nm  
Температура: 18-25/37°C  
Бланк: по реагенту

1. Внесите в маркированные пробирки:

	Образец	Бланк
Reagent A	0,25 ml	0,25 ml
Дистиллированная вода	-	0,05 ml
Сыворотка крови	0,05 ml	-

- Перемешайте и инкубируйте 60 минут при 37°C.
- Добавьте в маркированные пробирки по 0,25 ml Reagent B.
- Перемешайте и инкубируйте 20 минут при 18-25°C.
- Добавьте в маркированные пробирки по 2,5 ml 0,4 M NaOH.
- Перемешайте и инкубируйте 10 минут при 18-25°C.
- Измерьте абсорбцию опытной пробы относительно Бланка при длине волны 500-550 nm. Окраска стабильна 30-40 минут. При необходимости можно пропорционально изменить объемы компонентов смеси в соотношении:  
Сыворотка(дист. вода):Reagent A: Reagent B: 0,4 M NaOH = 1:5:5:50.

### РАСЧЕТЫ

Содержание AST рассчитайте по калибровочному графику.

### ПОСТРОЕНИЕ КАЛИБРОВОЧНОГО ГРАФИКА

1. Для построения калибровочного графика подготовьте пробы согласно таблице:

Раствор	Номера проб				
	1	2	3	4	5
Дистиллир. вода, ml	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Reagent S, ml	-	0,05	0,10	0,15	0,20
Reagent A, ml	0,50	0,45	0,40	0,35	0,30
Reagent B, ml	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Активность AST, mmol/h . l	0	0,5	1,0	1,5	2,0

- Перемешайте и инкубируйте 20 минут при 18-25°C.
  - Добавьте в маркированные пробирки по 5,0 ml 0,4 M NaOH.
  - Перемешайте и инкубируйте 10 минут при 18-25°C.
  - Измерьте абсорбцию со 2 по 5 пробы относительно первой пробы. Длина волны 500-550 nm.
  - Активность AST в пробах соответствует таблице.
  - Постройте график зависимости абсорбции от активности фермента.
- 1 mmol/h x l = 278 nmol/s x l = 16,7 IU/l

### МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Предел чувствительности: 0,36 mmol/h x l = 100 nmol/s x l.

Предел линейности: 4,2 mmol/h x l = 1170 nmol/s x l. При более высоких значениях разведите образец 3 % раствором альбумина в физрастворе, повторите измерение и результат умножьте на коэффициент разведения.

Коэффициент вариации < 7 %.

Интерференция: Повышенная концентрация веществ, содержащих кетогруппы, вызывает ложное завышение активности фермента, поэтому для больных диабетом необходимо поставить холостую пробу, в которую внести сыворотку после добавления Reagent C.

### ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аминотрансферазы катализируют образование глютаминовой кислоты из 2-оксиглютарата путем переноса аминокетогрупп. AST присутствует во многих тканях, но наибольшие концентрации определяются в печени, сердечных мышцах и скелетной мускулатуре, а также в поджелудочной железе, селезенке и легких. Сывороточная концентрация AST повышается при гепатите и заболеваниях печени, сопровождающихся некрозом гепатоцитов: инфекционном мононуклеозе, холестазе, циррозе, метастатической карциноме печени, белой горячке и при назначении лекарственных средств, таких как опиаты, салицилаты или ампицилин<sup>4,5</sup>. Концентрация AST в сыворотке повышается также после инфаркта миокарда, при тяжелой коронарной недостаточности, после приступов параксизмальной тахикардии, при заболеваниях скелетной мускулатуры, при остром панкреатите и других заболеваниях<sup>4,5</sup>.

**DAC-SpectroMed s.r.l.**  
MD-2012, Moldova, or. Chisinau, str. Armeneasca 47, ap. 64  
Tel.: /+3732/ 574900, 574922/23; fax: /+3732/ 574920  
Email: office@dacspectromed.com  
www.dacspectromed.com  
PT MD 11-38623324-002:2002

## AST - DAC ACTIVITATEA ASPARTATAMI NOTRANSFERAZE METODA REITMAN-FRENCHEL

Numai pentru diagnosticare «in vitro»  
A se păstra la 2-8°C

Cod 2023A1200 400 determinări

### PRINCIPIUL METODEI

Aspartataminotransferaza (AST) catalizează transferul reversibil al aminogrupelor de la asparagină către α-cetoglutarat conform reacției descrise mai jos. Activitatea AST este proporțională conținutului de dinitrofenilhidrazon, măsurată la 500-550 nm.



Piruvat + 2,4-dinitrofenilhidrazină → dinitrofenilhidrazon

### COMPONENȚA SETULUI

Reagent A	pH 7,4
L-аспарат	0,1 mol/l
Acid α- cetoglutaric	2 mmol/l
Fosfați	0,1 mol/l
Reagent B	
2,4-dinitrofenilhidrazină	1 mmol/l
Reagent C	
Hidroxid de sodiu	2,0 mol/l
Reagent S	2,5 ml
Soluție de piruvat pentru calibrare	2,0 mmol/l

### PĂSTRAREA ȘI STABILITATEA REAGENȚILOR

Reagenții sunt stabili la 2-8°C până la data indicată pe etichetă.  
În Reagent C se admite apariția precipitatului.

### PROBE

Ser. Nu se va utiliza serul hemolizat.  
AST in ser este stabilă la 2-8°C 7 zile.

### VALORI DE REFERINȚĂ

0,10-0,45 mmol/h x l = 28-125 nmol/s x l = 1,7 - 7,5 IU/l  
Aceste valori sunt orientative. Se recomandă stabilirea diapazonului de referință în laboratorul dat

### CONTROLUL CALITĂȚII

Pentru controlul mersului reacției și a procedurii de măsurare se recomandă de folosit seruri normale și patologice pentru control.  
Se recomandă stabilirea sistemului intern de control în laboratorul dat.

### ECHIPAMENT ADIȚIONAL

Analizor, spectrofotometru sau fotometru cu filtrul 500-550 nm.  
Baie de apă sau termostat 37°C. Cronometru.  
Dozatoare 25,0 µl, 0,25 ml și 2,5 ml.

### PRECAUȚII

Setul este destinat numai pentru diagnosticare in vitro  
Probele pacienților vor fi considerate ca material potențial contagios și se vor prelucra analitic color contagioase.  
La utilizarea setului se vor respecta regulile de securitate prevăzute pentru lucrul cu substanțe toxice.

### PREPARAREA REAGENȚILOR DE LUCRU

Reagentul A, Reagentul B și Reagentul S sunt gata de utilizare.  
Prepararea soluției de 0,4 M NaOH: Reagentul C se va dilua cu apă distilată, care nu conține carbonați, într-o retortă cotată până la volumul indicat pe etichetă. Se va păstra într-un vas de polietilenă și se va utiliza până la apariția sedimentului.

### METODA DE LUCRU

Executarea probelor paralele este obligatorie!

Metoda: Reitman-Frenchel  
Lungimea de undă: 500-550 nm  
Temperatura: 18-25/37°C  
Instalarea zero: după reagent

1. Se va pipeta în eprubetele marcate:

	Proba	Blanc
Reagent A	0,25 ml	0,25 ml
Apă distilată	-	0,05 ml
Ser sanguin	0,05 ml	-

- Se va amesteca și se va incuba 60 minute la 37°C
- Se va adăuga în eprubete cite 0,25 ml Reagent B.
- Se va amesteca și se va incuba 20 minute la 18-25°C.
- Se va adăuga în eprubete cite 2,5 ml 0,4 M NaOH.
- Se va amesteca și se va incuba 10 minute la 18-25°C.
- Se va măsura absorbția Probei contra Blanc la lungimea de undă 500-550 nm. Culoarea este stabilă 30-40 min.
- La utilizarea cuvelor de altă capacitate (decît cele propuse) se va mari proporțional volumul componentelor amestecului.  
Ser (apa distilată): Reagent A: Reagent B: 0,4 M NaOH = 1:5:5:50.

### CALCULE

Activitatea AST se va calcula utilizind curba de calibrare.

### TRASAREA CURBEI DE CALIBRARE

1. Pentru trasarea curbei de calibrare se vor prepara probele conform tabelului:

Soluție	Numărul probei				
	1	2	3	4	5
Apă distilată, ml	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Reagent S, ml	-	0,05	0,10	0,15	0,20
Reagent A, ml	0,50	0,45	0,40	0,35	0,30
Reagent B, ml	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Activitatea AST, mmol/h . l	0	0,5	1,0	1,5	2,0

- Se va amesteca și se va incuba 20 minute la 18-25°C.
- Se va adăuga în eprubete cite 5,0 ml 0,4 M NaOH.
- Se va amesteca și se va incuba 10 minute la 18-25°C.
- Se va măsura absorbția probelor de la 2 până la 5 contra primei probe. Lungimea de undă 500-550 nm.
- Activitatea ALT în probe corespunde tabelului.
- Se va trasa curba dependenței absorbției de activitatea fermentului.  
1 mmol/h x l = 278 nmol/s x l = 16,7 IU/l

### CHARACTERISTICI METROLOGICE

Limita sensibilității: 0,36 mmol/h x l = 100 nmol/s x l.

Limita linearității: 4,2 mmol/h x l = 1170 nmol/s x l. Pentru valori mai ridicate proba se va dilua cu soluție de albumină 3%. În calitate de disolvant proba se va dilua cu soluție de albumină se va utiliza soluția fiziologică. Se va repeta măsurarea. Rezultatul se va înmulți la coeficientul de diluție.

Coeficientul de variație < 7 %.

Interferențe: Nivelul ridicat al substanțelor care conțin ceto-grupe provoacă o majorare falsă a activității fermentului, din acest motiv probele colectate de la bolnavii care suferă de diabet zaharat se vor efectua în paralel cu o probă nulă, în care se va pipeta ser după adăugarea Reagentului C.

### CHARACTERISTICI DIAGNOSTICE

Aminotransferaza catalizează formarea acidului glutamic din 2-oxoglutarat datorită transferului aminogrupelor.  
AST, în limitele valorilor normale, este prezentă în multe țesuturi iar concentrația mai sporită se determină în ficat, mușchii cardiac, musculatura scheletală, pancreas, splină și plămâni.  
Concentrația AST în ser se mărește în caz de hepatită și alte boli ale ficatului însoțite de necroza hepatocitelor: mononucleoză infecțioasă, colestaze, ciroză, carcinoma metastatică a ficatului, delir alcoolic și la administrarea preparatelor: opiacee, salicilați și ampiciilin<sup>4,5</sup>.  
Concentrația AST în ser se mărește după infarct miocardic, în caz de insuficiență coronariană grava, după aceea de tahicardie paroxistică, maladiile musculaturii scheletale, (exemplu, distrofie musculară progresivă), pancreatită și alte maladii<sup>4,5</sup>.

# DAC-SPECTROMED SRL

47, Armeneasca, str., apt. 64, Chisinau MD-2012 Moldova  
Tel.: +37322/ 574900, 574922/23; fax: +37322/ 574920  
Email: office@dacspectromed.com

www.dacspectromed.com  
PT MD 11-38623324-002:2002

## AST - DAC

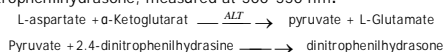
ASPARTATAMI NOTRANAFERASE  
PHOTOMETRIC METHOD BU RAI TMAN-FRENKEL

For «in vitro» diagnostic use only  
Store at 2-8°C

Cod 2023A1200 400 tests

### PRINCIPLE

Aspartate aminotransferase (AST) catalyzes the reversible transfer of the aspartate amino groups to  $\alpha$ -ketoglutarate by reactions, described below. The activity of AST is proportional to content of dinitrophenylhydrazosone, measured at 500-550 nm.



### CONTENTS AND COMPOSITION

Reagent A	<b>pH 7,4</b>
L-aspartate	0,1 mol/l
$\alpha$ -ketoglutaric acid	2 mmol/l
phosphate buffer	0,1 mol/l
Reagent B	
2,4-dinitrophenylhydrazosone	1 mmol/l
Reagent C	
sodium hydroxide	2,0 mol/l
Reagent S	2,5 ml
calibration solution of sodium pyruvate	2,0 mmol/l

### STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

Reagents are stable at 2-8°C until the expiry date shown on the label.

### SAMPLES

Serum free of Hemolysis.

AST in serum is stable for 7 days at 2-8°C.

### REFERENCE VALUES

0,10-0,45 mmol/h x l = 28-125 nmol/s x l = 1,7 - 7,5 IU/l

These ranges are given for orientation only; each laboratory should establish its own reference ranges.

### QUALITY CONTROL

It is recommended to use the Sera N and Sera P to verify the performance of the measurement procedure.

Each laboratory should establish its own internal Quality Control scheme and procedures for corrective action if controls do not recover within the acceptable tolerances.

### ADDITIONAL EQUIPMENT

Analyzer, spectrophotometer or photometer with filter 500-550 nm. Water bath 37°C. Stopwatch.

Pipettes for 25,0  $\mu$ l, 0,25 ml, and 2,5 ml.

### PRECAUTION

For in vitro diagnostics only.

Handle all patients' samples as potentially dangerous and treat as infectious. Precautions established for work with caustic and toxic substances should be observed while using the reagents.

### REAGENT PREPARATION

Reagent A, Reagent B and Reagent S are ready to use.

Preparation of 0,4 M NaOH: Dilute Reagent C in volumetric flask with distilled water, free from carbonates, up to volume specified on a label. Store in polyethylene bottle and use until appearance of

### PROCEDURE

Testing of parallel samples is obligatory!

Assay conditions

Wavelength: 500-550 nm  
Temperature: 18-25/37°C  
Cuvette: 1 cm light path  
Read against: against reagent  
Method: Raitman-Frenkel

1. Pipette in labeled tubes:

	Tested sample	Control sample
Reagent A	0,25 ml	0,25 ml
Distilled water	-	0,05 ml
Blood serum	0,05 ml	-

2. Mix and incubate for 60 minutes on water bath at 37°C.

3. Add in labeled tubes 0,25 ml of Reagent B.

4. Mix and incubate for 20 minutes at 18-25°C.

5. Add in labeled tubes 2,5 ml of 0,4 M NaOH.

6. Mix and incubate for 10 minutes at 18-25°C.

7. Measure the absorbance of tested sample relative to control sample.

Wave length is 500-550 nm. Coloration is stable for 30-40 minutes.

When using the cuvette with different than suggested volume, it is necessary to change proportionally the volumes of components mixture in the ratio:

Serum (distilled water): Reagent A: Reagent B: 0,4 M NaOH = 1:5:5:50

### CALCULATIONS

Calculate the AST activity by calibration curve.

### CONSTRUCTION OF CALIBRATION CURVE

1. For construction of calibration curve prepare samples according to the table:

Solution	Samples numbers				
	1	2	3	4	5
Distilled water, ml	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Reagent S, ml	-	0,05	0,10	0,15	0,20
Reagent A, ml	0,50	0,45	0,40	0,35	0,30
Reagent B, ml	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
AST activity, mmol/h x l	0	0,5	1,0	1,5	2,0

2. Mix and incubate for 20 minutes at 18-25°C.

3. Add in labeled tubes 5,0 ml of 0,4 M NaOH.

4. Mix and incubate for 10 minutes at 18-25°C.

5. Measure the absorbance of samples 2-5 relative to first sample. Wave-length is 500-550 nm.

6. The AST activity in samples corresponds to table.

7. Construct the curve of absorbance depending on enzyme activity.

1 mmol/h x l = 278 nmol/s x l = 16,7 IU/l

### METROLOGICAL CHARACTERISTICS

Sensitivity limit: 0,36 mmol/h x l = 100 nmol/s x l.

Linearity limit: 4,2 mmol/h x l = 1170 nmol/s x l. For higher values, dilute the sample with 3% solution of albumin in saline solution, and repeat measurement. Multiply the result by dilution coefficient.

Reproducibility (run to run): variation factor < 7 %.

Interference:

Increased concentration of substances, containing ketogroups, cause false increase enzyme activity. Therefore, it is essential for diabetics to test blank sample, where pipette serum after adding Reagent C.

### DIAGNOSTIC CHARACTERISTICS

Aminotransferases catalyze the formation of glutamic acid from 2-oxoglutarate by transfer of amino groups.

AST is normally present in many tissues, but the highest concentrations are found in liver, cardiac muscles, also in kidneys and pancreas.

The serum concentration of AST is elevated in hepatitis and other forms of liver diseases associated with necrosis: infectious mononucleosis, cholestasis, cirrhosis, metastatic carcinoma of the liver delirium tremens, and after administration of various drugs, such as opiates, salicylates or ampicilin.

Also the serum concentration of AST is elevated after cardiac infarction, in disease of skeletal muscles (for example, progressive muscle dystrophy), in acute pancreatitis and other diseases<sup>4,5</sup>.

### BIBLIOGRAPHY

1. V.G. Kolb, V.S. Kamyshnikov. Clinical chemistry reference book., M, Medicine, 1986.
2. Edition by V.V. Menshikov. Laboratory method for clinical assay. Handbook, M, Medicine, 1987.
3. A.M. Goriachkovsky. Reference manual for clinical biochemistry. Odessa, OKFA, 1994.
4. Friedman and Young, Effects of disease on clinical laboratory tests, 3rd ed. AACCC Press. 1987.
5. Tietz NW, Clinical guide to laboratory tests, 2nd ed. Saunders co, 1991

sediment.