

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ АСПАРТАМИНОТРАНСФЕРАЗЫ В СЫВОРОТКЕ И ПЛАЗМЕ КРОВИ (КАТ.№№ В-10471, В-10472, В-10473, В-10474)

Утверждена приказом Росздравнадзора от 19.01.2009 г. № 224-Пр/09
РУ № ФСР 2009/04023 от 19.01.2009 г.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для фотометрического определения активности аспаратаминотрансферазы (АСТ) в сыворотке и плазме крови ферментативным кинетическим IFCC-методом без пиридоксаль-5-фосфата в клинико-диагностических лабораториях и в научно-исследовательской практике. Набор рассчитан на 50, 100, 125 и 500 определений при конечном объёме реакционной смеси 1 мл.

ПРИНЦИП МЕТОДА

АСТ катализирует реакцию переаминирования между L-аспарагиновой кислотой и 2-оксоглутаратом с образованием L-глутамата и оксалоацетата. В ходе последующей окислительно-восстановительной реакции между оксалоацетатом и НАДН, катализируемой малатдегидрогеназой и лактатдегидрогеназой, в эквимольных количествах получают малат и НАД⁺. Скорость уменьшения концентрации НАДН прямо пропорциональна активности АСТ.

СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1 (Р1). ТРИС-НСI – 0,1 моль/л, МДГ – 800 Е/л, ЛДГ – 600 Е/л, L-аспарагиновая кислота – 0,2 моль/л, азид натрия
Реагент 2 (Р2). ТРИС-НСI – 0,1 моль/л, 2-оксоглутарат – 15 ммоль/л, НАДН – 0,18 ммоль/л, азид натрия

Кат.№	Фасовка
В-10471	Р1 1x80 мл + Р2 1x20 мл
В-10472	Р1 5x80 мл + Р2 1x100 мл
В-10473	Р1 1x40 мл + Р2 1x10 мл
В-10474	Р1 5x20 мл + Р2 1x25 мл

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность – не более 15 Е/л.
Линейность – от 20 до 240 Е/л с отклонением не более 5%.
Коэффициент вариации – не более 5%.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Во избежание возможного инфицирования при работе с образцами крови необходимо надевать одноразовые резиновые перчатки.

При использовании набора следует соблюдать правила техники безопасности при работе с химическими веществами.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Анализаторы открытого типа различных изготовителей, набор дозаторов, позволяющих отбирать объёмы 0,1-1,0 мл, термостат, секундомер.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка и плазма крови.
АСТ в сыворотке стабильна 24 часа при температуре 18-25°C, 28 суток при 4°C и не меньше 1 года при -20°C [1,2].

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

Приготовление монореагента (для схемы 1)
Смешать необходимые количества реагентов 1 и 2 в соотношении 4:1. Полученный моноагент стабилен в течение 14 дней при температуре 2-8°C.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны 340 нм.
Кювета с длиной оптического пути 10 мм.
Температура проведения реакции 37°C.
Приготовить пробы в соответствии со схемой определения (объёмы компонентов могут быть пропорционально изменены).

Схема 1. Запуск реакции образцом

Раствор	Опытная проба
Монореагент, мл	1,0

Инкубировать 5 мин. при температуре 37°C.

Образец, мл	0,1
-------------	-----

Пробы тщательно перемешать. Через 60 с измерить оптическую плотность опытной пробы (E₁). Через 60 с повторить измерение (E₂).

Рассчитать изменение оптической плотности за минуту (E₁ - E₂).

Схема 2. Запуск реакции реагентом 2

Раствор	Опытная проба
Реагент 1, мл	0,8

Образец, мл	0,1
-------------	-----

Перемешать, инкубировать 5 мин. при температуре 37°C.

Реагент 2, мл	0,2
---------------	-----

Пробы тщательно перемешать. Через 60 с измерить оптическую плотность опытной пробы (E₁). Через 60 с повторить измерение (E₂).

Рассчитать изменение оптической плотности за минуту (E₁ - E₂).

РАСЧЁТ

Активность **A** аспаратаминотрансферазы в единицах **Е/л** рассчитать по формуле:

$$A = 1746 \cdot (E_1 - E_2)$$

ПАРАМЕТРЫ ДЛЯ БИОХИМИЧЕСКИХ АНАЛИЗАТОРОВ

Тип анализатора	Любой
Метод измерения	Кинетика
Длина волны, нм	340
Измерение против	Воздуха или дистилл. воды
Температура реакции	37°C
Единица измерения	Е/л
Число знаков после запятой	0
Изменение оптической плотности	Уменьшается
Фактор	1746
Соотношение реагент/проба	10:1
Количество измерений, не менее	3
Время преинкубации, сек.	60
Время реакции, сек.	60
Верхний предел абсорбции реагента против воды, E	2,0
Нижний предел абсорбции реагента против воды, E	0,8
Предел максимальной абсорбции ΔE/мин.	0,14
Границы линейности, E/л	20-240
Максимум нормы, E/л	40*
Минимум нормы, E/л	6*

* Приведены нормальные величины для мужчин.

В случае возникновения каких-либо трудностей можно запросить адаптированную инструкцию по работе с набором «КлиниТест-АСТ» на вашем анализаторе.

ПРИМЕЧАНИЯ

1. Для каждого анализатора желательно уточнять фактор пересчёта по контрольным сывороточным калибраторам, аттестованным данным методом.
2. Если активность АСТ выше 240 Е/л, образец развести физраствором в 10 раз, анализ повторить, величину рассчитанной активности умножить на 10.

НОРМАЛЬНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Мужчины от 6 до 40 Е/л
Женщины от 6 до 32 Е/л

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнять диапазон нормальных величин.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре 2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (12 месяцев). Реагенты после вскрытия флаконов можно хранить при температуре 2-8°C в течение всего срока годности набора.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества может быть проведён по контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Энциклопедия клинических лабораторных тестов. Под ред. проф. Н.У. Тица, М., 1997, «Лабинформ».
2. Обеспечение качества лабораторных исследований. Преаналитический этап. Под ред. В.В. Меньшикова, М., 1999, «Лабинформ», с. 161.