

**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ АСПАРТАМИНОТРАНСФЕРАЗЫ В СЫВОРОТКЕ И ПЛАЗМЕ КРОВИ (КАТ.№№ В-10471, В-10472, В-10473, В-10474, В-10476)**

РУ № ФСР 2009/04023

**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, 250 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 получаются малат и НАД<sup>+</sup>. Скорость уменьшения концентрации НАДН прямо пропорциональна активности АСТ.

**СОСТАВ НАБОРА**

Реагент 1 (Р1). ТРИС-НСl – 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-НСl – 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
В-10476	Р1 1x200 мл + Р2 1x50 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 монореагент 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
<i>Пробы тщательно перемешать. Через 60 с измерить оптическую плотность опытной пробы (E<sub>1</sub>). Через 60 с повторить измерение (E<sub>2</sub>).</i>	

Рассчитать изменение оптической плотности за минуту (E<sub>1</sub> - E<sub>2</sub>).

**Схема 2.** Запуск реакции реагентом 2

Раствор	Опытная проба
Реагент 1, мл	0,8

Образец, мл	0,1
<i>Перемешать, инкубировать 5 мин. при температуре 37°C.</i>	

Реагент 2, мл	0,2
<i>Пробы тщательно перемешать. Через 60 с измерить оптическую плотность опытной пробы (E<sub>1</sub>). Через 60 с повторить измерение (E<sub>2</sub>).</i>	

Рассчитать изменение оптической плотности за минуту (E<sub>1</sub> - E<sub>2</sub>).

**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, Е	2,0
Нижний предел абсорбции реагента против воды, Е	0,8
Предел максимальной абсорбции ΔЕ/мин.	0,14
Границы линейности, Е/л	20-240
Максимум нормы, Е/л	40*
Минимум нормы, Е/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). Допускается хранение и транспортирование набора при температуре до +25°C не более 5 суток. Допускается однократное замораживание. 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. Миньшикова, М., 1999, «Лабинформ», с. 161.