

УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора

от _____ 2009 г. № _____ -Пр/09

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор Управляющей компании
ООО «Эйлитон» ОО «Юнимед-менеджмент»
А.Н.Шибанов
2009г.



ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов для определения активности
аспартатаминотрансферазы в сыворотке или плазме человека кинетическим методом
«АСТ - UTS»

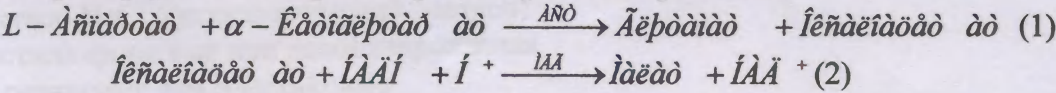
1. НАЗНАЧЕНИЕ

- 1.1. Набор реагентов «АСТ-UTS» предназначен для определения активности аспартатаминотрансферазы в сыворотке крови человека кинетическим методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях.
- 1.2. АСТ – это внутриклеточный фермент, который в высокой концентрации находится в сердечной мышце. Содержание АСТ измеряют при диагностике и лечении заболеваний сердца (в первую очередь инфаркта миокарда) и печени. Определение соотношения уровней активности АСТ и аланинаминотрансферазы служит для дифференциации заболеваний печени и сердца.
- 1.3. Набор рассчитан, в зависимости от варианта комплектации, на проведение 100 (комплект 1); 125 (комплект 2); 200 определений (комплект 3) или 500 определений (комплект 4) при расходе 1,0 мл реагента на один анализ.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Аспартатаминотрансфераза (АСТ) катализирует реакцию переноса аминогруппы с аспартата на кетоглутарат, образуя оксалоацетат и глутамат (1). В присутствии малатдегидрогеназы (МДГ) происходит восстановление оксалоацетата до малата за счет окисления НАДН (2). Скорость окисления НАДН прямо пропорциональна активности аспартатаминотрансферазы и измеряется фотометрически при 340 нм.



2.3. Состав набора

Компоненты и их состав:

Наименование	Состав	Концентрация
Реагент 1 (P1)	Трис (pH 7,8)	80 ммоль/л
Буферно-ферментный раствор	Лактатдегидрогеназа	800 Е/л
	Малатдегидрогеназа	600 Е/л
	L-аспартат	200 ммоль/л
Реагент 2 (P2)	НАДН	0,18 ммоль/л
Субстрат	α-Кетоглутарат	12 ммоль/л

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- 3.1. Набор обеспечивает линейную область определения активности аспартатаминотрансферазы от 3,0 Е/л до 290 Е/л, отклонение от линейности не превышает 5%.

- 3.2. Чувствительность – не более 3 Е/л.
- 3.3. Воспроизводимость - коэффициент вариации результатов определений – не более 5%.
- 3.4. Качество набора можно оценивать по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.
- 3.4. Для калибровки автоматизированных фотометрических систем рекомендуется использовать сывороточные калибраторы, аттестованные по значению активности АСТ данным методом.
- 3.5. Нормальные величины активности аспаратаминотрансферазы в сыворотке или плазме взрослого человека составляют до 40 Е/л.
- 3.6. Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон значений нормальных величин для обследуемого контингента людей.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- 4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а (ГОСТ Р 51609-2000).
- 4.2. При работе с набором необходимо соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).
- 4.3. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

- Спектрофотометр, программируемый фотометр или анализатор, длина волны 340 нм, термостатируемая при $+37^{\circ}\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ кювета с длиной оптического пути 10 мм*
- Термостат или водяная баня, обеспечивающие температуру $+37^{\circ}\text{C}\pm 0,5^{\circ}\text{C}$
- Секундомер
- Пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 100 и 1000 мкл
- Цилиндры мерные объемом 25 и 100 мл
- Колба коническая вместимостью не менее 150 мл
- 0,9% раствор NaCl (физиологический раствор)
- Вода дистиллированная или деионизированная.

Перчатки резиновые или пластиковые

***Внимание:** при использовании кювет с длиной оптического пути, отличной от 10 мм, требуется перерасчет фактора набора. При использовании биохимического анализатора с ненормированной длиной оптического пути требуется калибровка по сывороточным калибраторам, аттестованным по значению активности АСТ данным методом.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

- 6.1. Негемолизированная сыворотка или плазма крови.
- 6.2. Сыворотку или плазму крови следует отделить от форменных элементов крови не позднее, чем через 1 час после забора крови.
- 6.3. Образцы сыворотки и плазмы крови стабильны при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ – не более 7 суток, 3 месяца при -20°C .

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. **Приготовление рабочего реагента:** смешать в колбе конической 4 объема Реагента 1 и 1 объем Реагента 2, отмеренные мерными цилиндрами. Раствор рабочего реагента стабилен 21 сутки при температуре 2-8 °С или 3 суток при 18-25 °С.

7.2. Раствор рабочего реагента прогреть до +37 °С.

7.3. Компоненты реакционной смеси отбирать в объемах, указанных в таблице:

Наименование	Объем, мкл
Рабочий реагент	1000
Сыворотка или плазма крови	100

7.4. Пробы перемешать и инкубировать при температуре +37 °С в течение 1 минуты.

Примечание. При использовании автоматических или полуавтоматических биохимических анализаторов количество реагентов и анализируемых образцов в зависимости от объема используемой кюветы может быть пропорционально изменено (соотношение сыворотки или плазмы крови к рабочему реагенту составляет 1:10).

8. ПРОВЕДЕНИЕ ИЗМЕРЕНИЙ

8.1. Измерить оптическую плотность анализируемого образца (D_0) при температуре +37 °С, при длине волны 340 нм против дистиллированной воды или воздуха.

8.2. Включить таймер и через 1, 2 и 3 минуты (точно!) аналогично измерить оптическую плотность анализируемого образца (D_1 , D_2 и D_3).

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Рассчитать среднее изменение оптической плотности пробы в минуту (ΔD):

$$\Delta D = [(D_1 - D_0) + (D_2 - D_1) + (D_3 - D_2)] / 3$$

9.2. Активность аспартатаминотрансферазы в сыворотке или плазме крови А (Е/л) определить по формуле:

$$A = 1750 \times \Delta D$$

где 1750 – фактор пересчета для выражения активности аспартатаминотрансферазы в Е/л.

9.3. Если вычисленное значение ΔD превышает величину 0,15 ед. опт. плотн./мин, развести исследуемый образец физиологическим раствором в 10 раз, повторить анализ, а результат определения умножить на 10.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор реагентов «АСТ-UTS» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.2. Срок годности набора 12 месяцев.

10.3. Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов могут храниться при температуре 2–8 °С в плотно закрытых флаконах в темном месте в течение всего срока годности набора.

10.4. Рабочий реагент можно хранить в плотно закрытом флаконе при температуре 2–8 °С не более 21 суток или при комнатной температуре (18–25 °С) не более 3 суток.

10.5. Оптическая плотность рабочего реагента при 340 нм должна составлять 1,7÷2,0 ед. опт. плотн. (при использовании кювет с длиной оптического пути 10 мм).

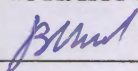
10.6. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

По вопросам, касающимся качества набора «АСТ-UTS» следует обращаться в ЗАО «А/О ЮНИМЕД» по адресу: 129301, Москва, ул. Касаткина, 3а; Тел. (495) 734-91-31, 8-800-333-91-31.

Факс: (495) 564-86-41; E-mail: office@unimeda.ru; <http://www.unimeda.ru>

Руководитель отдела производства реагентов

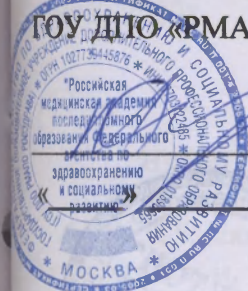
ООО «ЭЙЛИТОН»

 к.б.н. Нечаев В.Н.

«СОГЛАСОВАНО»

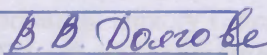
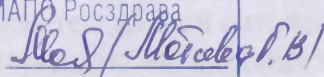
зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики

ГОУ ДПО «РМАПО Росздравнадзора»



д.м.н., профессор Долгов В.В.

2009 г

Подпись 
удостоверяю: специалист по
кадровой работе ГОУ ДПО
РМАПО Росздрава
подпись: 

Факс: (495) 564-56-41, E-mail: office@goszdravnadzor.ru

Генеральный директор

ООО «СИНИТОН»

г.б.н. Москва М.Н.

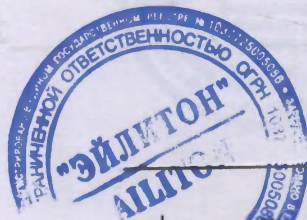
«СОТ ЛАСОВАНО»

на кафедру клинической лабораторной диагностики

ТОУ ДПО «МАНО Росздрава»

д.м.н., профессор Дюков В.В.

2009 г.



Всего прошнуровано,
подсчитано и скреплено
4 лист.
Генеральный директор УК
А.Н. Шибанов