

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора
от _____ 2012 г. № _____



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения активности
аспартатаминотрансферазы в сыворотке и плазме крови
кинетическим методом
(АСТ-4-ОЛЬВЕКС)

Назначение

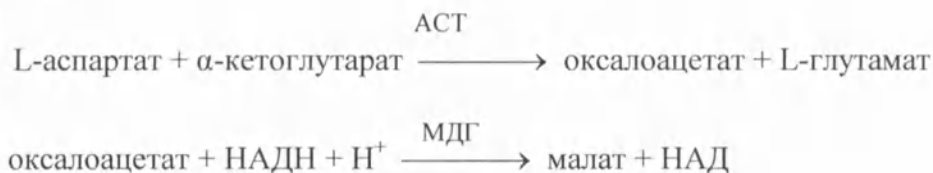
Набор «АСТ-4-ОЛЬВЕКС» предназначен для количественного определения активности аспартатаминотрансферазы (АСТ) в сыворотке или плазме крови человека энзиматическим кинетическим методом с использованием альфа-кетоглутарата в качестве стартового реагента в клинической лабораторной диагностике..

Набор рассчитан на проведение 50, 200 или 500 определений при расходе 1,0 мл рабочего реагента на один анализ.

Принцип метода

Под действием фермента аспартатаминотрансферазы (АСТ) в результате переаминирования происходит перенос аминогруппы с аспартата на альфа-кетоглутарат. Образующийся в данной реакции оксалоацетат при участии фермента малатдегидрогеназы (МДГ) и кофермента НАДН₂ превращается в малат. Скорость окисления НАДН₂ в ходе второй реакции определяется по уменьшению оптической плотности реакционной среды при 340 нм и пропорциональна активности АСТ.

Схема реакции:



Состав набора

В состав набора реагентов входят следующие компоненты:

- реагент 1 (буфер-субстратный раствор), содержащий L-аспарагиновую кислоту, 287 ммоль/л; трис, 120 ммоль/л; соляную кислоту, 63 ммоль/л; сорбиновую кислоту, 1,0 г/л; гидроокись натрия 4N, 287 моль/л; азид натрия, 0,5 г/л; тиомочевину, 1,0 г/л; соляную кислоту 1N до pH 8,1; готов к применению – 1 флакон (50 мл), 2 флакона (по 100 мл) или 2 флакона (по 250 мл);

- реагент 2 (фермент-кофакторная смесь (лиофилизат)), содержащий трис, 10 ммоль/л; бычий сывороточный альбумин, 15 г/л; лактатдегидрогеназу, 20500 Е/л; малатдегидрогеназу, 20500 Е/л; НАДН двунариевая соль, 7,0 ммоль/л; азид натрия, 0,1 г/л; – 1 флакон (2,0 мл), 2 флакона (по 2,0 мл) или 2 флакона (по 2,0 мл).

- реагент 3 (стартовый реагент), содержащий трис, 50 ммоль/л; кетоглутарат натрия, 180 ммоль/л; азид натрия, 0,5 г/л; гидроокись натрия до pH 10,05; готов к применению – 1 флакон (5,0 мл), 1 флакон (20 мл) или 1 флакон (50 мл).

Аналитические характеристики

Реакция линейна в течение 3 мин в диапазоне активности АСТ от 5,0 до 190 Е/л.

Отклонение от линейности не превышает 5%.

Чувствительность не более 3,0 Е/л.

Коэффициент вариации результатов определений – не более 5%.

Качество набора может оцениваться по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

Нормальные величины активности АСТ в сыворотке или плазме крови у мужчин составляют от 10 до 37 Е/л, у женщин – от 10 до 31 Е/л.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон нормальных величин для обследуемого контингента.

Анализируемые образцы

Свежая негемолизированная сыворотка или плазма крови.

Активность АСТ в сыворотке или плазме крови снижается после 3 дней хранения: при температуре +2-8 °С – на 10 %, при комнатной температуре (+18-25 °С) – на 17 %.

Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 1.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

В состав компонентов набора входит азид натрия и соляная кислота. Следует избегать их попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При попадании внутрь следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

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.).

При работе с набором следует использовать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы сыворотки или плазмы крови человека являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять или передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Оборудование, материалы, реагенты:

- Спектрофотометр, длина волны 340 нм, термостатируемая кювета с длиной оптического пути 1,0 см; полуавтоматический или автоматический биохимический анализатор;
- термостат, поддерживающий температуру $+37 \pm 1$ °С;
- секундомер;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,1 и 1,0 мл;
- колба коническая вместимостью 100 мл;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- 0,9% раствор хлорида натрия (физиологический раствор).

Приготовление рабочего реагента

Перед проведением анализа содержимое одного флакона с реагентом 2 растворить в содержимом одного флакона с реагентом 1, аккуратно перемешивая. Рабочий реагент готов к применению через 20 мин после растворения.

Полученный рабочий реагент стабилен при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в защищенном от света месте в плотно закрытом флаконе не менее 14 дней.

Тщательно закрывать флаконы с реагентами непосредственно после каждого использования.

Проведение анализа

Исследование проводить непосредственно в термостатируемой фотометрической кювете. При измерении оптической плотности постоянно поддерживать температуру $+37^{\circ}\text{C}$.

В кювету спектрофотометра внести 1,0 мл рабочего реагента, добавить 0,1 мл сыворотки или плазмы крови. Через 1 мин добавить 0,1 мл реагента 3, тщательно перемешать и точно через 1 мин измерить оптическую плотность пробы при длине волны 340 нм в кювете с длиной оптического пути 1,0 см против воздуха. Замер оптической плотности повторить три раза с интервалом в 1 мин.

Расчеты

Определить среднее арифметическое значение изменения оптической плотности опытной пробы за 1 минуту по данным трех измерений ($\Delta E/\text{мин}$).

Расчет активности АСТ в сыворотке и плазме крови провести по формуле:

$$A = \Delta E/\text{мин} \times 1905,$$

где: A - активность АСТ, Ед/л;

$\Delta E/\text{мин}$ - среднее арифметическое значение изменений оптической плотности пробы за 1 мин;

1905 - фактор пересчета (указывается в паспорте набора).

В том случае, когда величина $\Delta \bar{E}/\text{мин}$ превышает 0,11, образец сыворотки или плазмы крови следует развести физиологическим раствором в 10 раз, провести анализ и полученный результат умножить на 10.

Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности.

Срок годности набора – 18 мес.

Рабочий реагент стабилен при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в защищенном от света месте в плотно закрытом флаконе не менее 14 дней.

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

По вопросам, касающимся качества набора «АСТ-4-ОЛЬВЕКС», следует обращаться в ООО «Ольвекс Диагностикум» по адресу:

195197, г. Санкт-Петербург, пр. Обуховской обороны, 70.

Тел: (812) 412-84-46, (812) 412-83-02;

Факс: (812) 412-84-29

и в Институт стандартизации и контроля лекарственных средств ФГУ «НЦ ЭСМП» Росздравнадзора по адресу:

117246, г. Москва, Научный проезд, д. 14 А.

Тел: (495) 120-60-95, 120-60-96.

Директор производства
ООО «Ольвекс Диагностикум»

Ющин К.В.

«Согласовано»

Заведующий кафедрой клинической
лабораторной диагностики ГБОУ ДПО
РМАПО Минздравсоцразвития России
д.м.н., профессор



Долгов В.В.

13.06.2012

Подпись _____
удостоверяю.
Специалист по кадрам РМАПО
Подпись _____
" " 20__ года