«ПОГОДЖЕНО»	«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Перший заступник голови Державної служби України з лікарських засобів	Головний лікар клінічної лікарні „Феофанія” Державного управління справами
09 листопада 2012 р. ***І.Б. Демченко***	*30 жовтня 2012 р.* ***І.П. Семенів***

Код за НК 024:2023 – **52954**

ІНСТРУКЦІЯ ДО НАБОРУ РЕАКТИВІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ АСПАРТАТАМІНОТРАНСФЕРАЗИ У СИРОВАТЦІ ТА ПЛАЗМІ КРОВІ (КІНЕТИЧНИЙ МЕТОД)

IVD

ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір застосовується для визначення активності аспартатамінотрансферази (**АсАТ**) у сироватці крові та плазмі людини *кінетичним методом* в клініко-діагностичних і біохімічних лабораторіях і науково-дослідницькій практиці.

Набір розрахований на відповідну кількість визначень активності АсАТ (Див. ***Примітку 1***).

REF	мікро	напівмікро	макро	REF	мікро	напівмікро	макро
НР004.07	**1000**	**500**	**250**	*НР004.08*	**1500**	**750**	**375**

Діапазон визначаємих активностей - від 4 МОд/л до 700 МОд/л.

Лінійність методу повинна зберігатися до швидкості зміни оптичної щільності (ΔЕ/хв) 0,16 для хвиль Hg 334 нм, 340 нм або 0,08 для Hg 365 нм (Див. ***Примітку 2***).

Коефіцієнт варіації визначення- не більше 5 %

Чутливість [7] на 0,001 од. оптичної щільності за 1 **хв** – не більше 3,5 **МОд/л** (365 нм).

Зберігання набору - при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С.

Гарантійний термін придатності набору - 12 місяців від дня виготовлення.

Набір призначений для застосування ***in vitro*** тільки кваліфікованим лабораторним персоналом.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

АсАТ каталізує перенос аміно-групи від L-аспартату до α-оксоглютарату в результаті чого утворюються оксалацетат та L-глютамат. Отриманий оксалацетат під час спряженої реакції, що каталізується малат-дегідрогеназою (MDH) вступає в реакцію з NADH, в присутності іонів водню. Продуктами цієї реакції є L-малат та NAD+.

АсАТ

L - аспартат + 2 - оксоглютарат → оксалацетат + L - глютамат

MDH

оксалацетат + NADH + H^+ → L - малат + NAD^+

НАДН и NAD^+ - дві форми β-нікотінамід аденін дінуклеотиду

Перетворення NADH в NAD+ супроводжується зміною в спектрі поглинання на довжині хвилі 340 або 334 або 365нм, при цьому зменшення оптичної щільності (ОЩ) розчину прямо пропорційне активності **АсАТ** в дослідній пробі.

До складу реагенту входить також лактат-дегідрогеназа (LDH), що необхідна для попередження впливу пірувату, який зазвичай міститься в невеликих кількостях в пробах, на результат аналізу [1].

СКЛАД НАБОРУ

1. Буферно-субстратний розчин АсАТ
   - ТРІС буфер (80,0 ± 4,0) ммоль/л,
   - L- аспарагінова кислота (0,240 ± 0,012) моль/л,

   НР004.07 *- 1 пляшка з (800 ± 20) мл;*
   НР004.08 *- 1 пляшка з (1000 ± 20) мл та 2 флакони по (100 ± 2) мл;*

2. Коензим-ензимний реагент
   - 2-оксоглутарова кислота (12,0 ± 0,6) ммоль/л
   - NADH (0,180 ± 0,009) ммоль/л
   - лактатдегідрогеназа (LDH) 800 МОд/л
   - малатдегідрогеназа (MDH) 600 МОд/л

   НР004.07 *- 2 флакони по (100 ± 2) мл;*
   НР004.08 *- 3 флакони по (100 ± 2) мл;*

ОБЛАДНАННЯ

1. Фотометричне обладнання, яке здатне вимірювати оптичну щільність розчинів при довжині хвилі ***334, 340*** або ***365*** нм в діапазоні (0-1,0) од. опт. щільності та довжині оптичного шляху

Набори повинні транспортуватися при температурі від + 2 °С до + 25 °С усіма видами критого транспорту. Допускається транспортування при температурі до + 25°С до 3-ох діб.

10 мм. **(Можливо використання автоматичного аналізатора. Інструкція для автоматичного аналізатора висилається за замовленням споживача.)**

2. Водяний термостат або автоматична водяна баня, які здатні підтримувати температуру плюс (37 ± 0,5)°С.
3. Піпетки місткістю 1, 0.1 та 5 мл (ДСТУ EN ISO 835:2018).

ЗРАЗОК [1]

Сироватка. Матеріал стабільний протягом 3 діб при температурі від плюс 2 ºС до плюс 8 ºС. Якщо зберігати сироватку при кімнатній температурі, активність ферментів знижується. Активність ферменту в сироватці знижується після 3 діб зберігання при температурі від плюс 18 °С до плюс 25 °С - на 10%. УНИКАТИ ГЕМОЛІЗУ!

Плазма. Гепаринізована або ЭДТО-плазма.

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

Робочий розчин: зігрійте до кімнатної температури та змішайте необхідні кількості **Буферно-субстратного розчину АсАТ** і **Коензим-ензимного реагенту** в співвідношенні **4:1** не менш, як за 20 хвилин до проведення аналізу у темному скляному флаконі.

Ретельно закривайте флакони безпосередньо після кожного використання реактивів. **Розчини *світлочутливі*. *Не заморожувати*. Робочий розчин** стійкий не менше 4 тижнів при температурі зберігання від плюс 2 °С до плюс 8 °С, 72 годин - від плюс 20 °С до плюс 25°С. Мінімальна екстинція **Робочого розчину проти води при 340 нм - 1,6** од. опт. щільності.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Витрату реактивів можна масштабувати, відповідно до аспіраційного об'єму кювети аналізатора, виходячи з постійного співвідношення: **Робочий розчин : Аналізуємий розчин = 10 : 1** (напр. **1 мл** Робочого розчину + **0,1 мл** сироватки).

Витримати **Робочий розчин** до вибраної температури проведення аналізу ***3 хв*** **(для 1 мл, якщо більше, то *5 хв*)** у кюветі. Введіть аналізуємий матеріал в **Робочий розчин**, ретельно перемішайте та через ***1 хв*** зчитуйте екстинцію (E_1) по відношенню до **повітря**. Потім зчитуйте екстинцію (E_2) ще через ***3 хв*** по відношенню до **повітря**. Розрахуйте середнє змінення екстинції за ***1 хв***. (ΔE/хв) (Див. ***Примітку 2***).

$$\Delta E = (E_1 - E_2)/3$$

Фотометрування - див. розділ «Обладнання».

РОЗРАХУНОК:

МОд/л=3235 × $\Delta E_{365нм}$ /хв * фактор перерахування одиниць 1 МОд/л=16,67 нмоль/(с×л)

МОд/л=1745 × $\Delta E_{340нм}$ /хв

МОд/л=1780 × $\Delta E_{334нм}$ /хв

мкмоль/(с×л) = мккат/л = 60 МОд/л(U/l)= 3,6 мкмоль/(год×мл)

НОРМАЛЬНІ ВЕЛИЧИНИ В СИРОВАТЦІ, IFCC, ПЛЮС 37 °С:

	Вік, років	**МОд/Л**
Чоловіки [4]		< 35
Жінки [4]		< 31
Діти [5]	1 – 3	< 50
	4 – 6	< 45
	7 – 12	< 40
	13 - 18	< 35

Дані величини орієнтовні, відповідно до правил GLP (Належної Лабораторної Практики) рекомендується визначення власних нормальних величин в кожній лабораторії, характерних для обстежуваного контингенту.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для контролю ходу реакції і процедури вимірювання рекомендується використовувати контрольні сироватки із значеннями, визначеними даним методом. Наприклад: Diacon N, Diacon P (Австрія), TruLab N, TruLab P (Німеччина), ”ФілоНорм” або „ФілоПат” (Україна).

Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте обладнання, реактиви та можливі технічні проблеми.

Кожна лабораторія повинна встановити власну внутрішню систему контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Амінотрансферази каталізують утворення глютамінової кислоти з 2-оксиглютарата шляхом перенесення аміногруп.

У нормі **АсАТ** присутня в багатьох тканинах, але найбільші концентрації визначаються в печінці, серцевих м'язах, а також в нирках і підшлунковій залозі.

Рівень сироваткової **АсАТ** підвищується при гепатиті та інших захворюваннях печінки, що супроводжуються некрозом гепатоцитів: інфекційному мононуклеозі, холестазі, цирозі, метастатичній карциномі печінки, білій лихоманці і при призначенні різних лікарських засобів, таких як опіати, саліцілати або ампіцилін, після інфаркта міокарду, при важкій коронарній недостатності, після нападів параксизмальної тахікардії, при захворюваннях скелетних м'язів (наприклад, що прогресує мускульна дистрофія), при гострому панкриотиті та інших захворюваннях [3,6].

Оскільки печінковий специфічний фермент АлАТ значно підвищений лише при гепатобіліарних захворюваннях, то підвищення рівня **АсАТ** може статися в наслідок пошкодження серцевих або скелетних м’язів, а також паренхіми печінки. Таким чином, застосовують паралельне вимірювання АлАТ та **АсАТ**, щоб відрізнити пошкодження печінки від пошкодження серцевих чи скелетних м'язів. Співвідношення **АсАТ**/АлАТ використовується для диференціальної діагностики при захворюваннях печінки. Хоча співвідношення < 1 вказують на легке ураження печінки, співвідношення > 1 пов'язане з важкими, часто хронічними захворюваннями печінки [4,8].

Клінічний діагноз повинен встановлюватися на основі інтеграції клінічних і лабораторних даних.

ПАРАМЕТРИ ПРОГРАМУВАННЯ

Найменування набору реактивів	АсАТ КІН
Тип аналізатора (напівавтомат/автомат)	будь-який
Метод виміру	Кінетика
Зміна оптичної щільності	Зміншуется
Довжина хвилі, нм	340
Вимір проти	повітря
Температура реакції, °С	37
Чинник	-1745
Концентрація стандарту	-
Співвідношення реагент/проба (мкл/мкл)	1000 : 100
Кількість вимірів, не менше	3
Час передінкубації, с	60
Час реакції, с	60
Одиниці виміру	МОд/л
Верхня межа абсорбції контрольної проби, А	2,00
Нижня межа абсорбції контрольної проби, А	1,00
Максимально допустиме ΔЕ/хв, А	0,160
Межі лінійності	0-700
Максимум норми	35
Мінімум норми	0
Підтвердження лінійності (так/ні)	так

ІНТЕРФЕРЕНЦІЯ

Ліпемія (тригліцериди 20 г/л), аскорбінова кислота до 300 мг/л та білірубін до 400 мг/л не заважають визначенню. Гемоліз перешкоджає проведенню аналізу, оскільки **АсАТ** присутня в еритроцитах.

На хід визначення можуть впливати деякі ліки і речовини [2,3].

УТИЛІЗАЦІЯ

Всі зразки для аналізу вважають за матеріал, який може бути інфікований, і разом з можливими залишками реактивів підлягає знищенню відповідно до затверджених внутрішньолікарняних правил.

Паперову упаковку здайте в макулатуру, виполоскану тару - в сортоване сміття.

ПРИМІТКИ

1. **Розраховано при витраті розчинів реагентів 1,0 мл (мікро-), 2,0 мл (напівмікро-), 4,0 мл (макро-).**
2. Якщо швидкість змінення абсорбції суміші перевищує 0.160 ΔE/хв на довжині хвилі 340 нм и 334 нм або 0.08 ΔE/хв на довжині хвилі 365 нм, слід розвести пробу в 10 разів фізрозчином та виконати вимірювання проби знов (отриманий результат слід помножити на 10).

ЛІТЕРАТУРА

1. Murray R. Aspartate aminotransferase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1112-116.
2. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
3. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
4. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Férard G et al. IFCC primary reference procedure for the measureent of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 5: Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of aspartate aminotransferase. Clin Chem Lab Med 2002; 40:725-33.
5. Thomas L. Alanine aminotransferase (ALT), Aspartate aminotransferase (AST). In: Thomas L, editor. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 55-65.
6. Expert Panel on enzyme of the IFCC, Clin. Chem. Acta, 1976. 70:F19
7. IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997).
8. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1999. P. 617-721.

ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика»,
Україна, 49051 м. Дніпро, вул. Каштанова, 32
Тел./факс: (056) 747-47-76, 747-45-34
Тел.:(093) 573-75-35, (067) 535-15-73, (095) 168-36-54
E-mail: filicit@ukr.net **http:**//www.felicit.com.ua

Виробник залишає за собою право вносити зміни без попереднього повідомлення. Дата останньої перевірки **06.12.2023**