ИНСТРУКЦИЯ
к набору реагентов для определения активности аспартатаминотрансферазы (АСТ) кинетическим методом

Торговая форма и состав набора

Кат № 1.069.0.01	R1 Ферментный реагент R2 Субстратный раствор	1 фл * 80 мл 1 фл * 20 мл
Кат № 1.069.0.02	R1 Ферментный реагент R2 Субстратный раствор	1 фл * 160 мл 1 фл * 40 мл
Кат № 1.069.0.10	R1 Ферментный реагент R2 Субстратный раствор	1 фл * 800 мл 1 фл * 200 мл

Введение

Аспартатаминотрансфераза АСТ (ASAT, AST, GOT) является ферментом, участвующим в метаболизме аминокислот. АСТ присутствует во всех видах тканей, но максимальный уровень наблюдается в сердечной и ске- летных мышцах, клетках печени и почек. Повышенная активность АСТ характерна в первую очередь для инфаркта миокарда, а также для заболеваний печени, почек или скелетных мышц.

Принцип метода

Фотометрический метод определения активности АСТ основан на следующей последовательности ферментативных реакций:

$$L\text{-аспартат} + \alpha\text{-оксоглутарат} \xrightarrow{АСТ} глутамат + оксалоацетат$$

$$оксалоацетат + NADH + H^+ \xrightarrow{МДГ} малатт + NAD^+$$

Скорость уменьшения концентрации никотинамидадениндинуклеотида (NADH) пропорциональна каталитической активности АСТ в образце, что измеряется фотометрически при длине волны 340 нм.

Аналитические характеристики набора:

Чувствительность: не более 15 Е/л
Линейность: до 240 Е/л
Коэффициент вариации: не более 5%.

Образцы и их стабильность

Сыворотка, гепаринизированная плазма крови. *Избегать гемолиза!!*

Подготовка реагентов для анализа и их стабильность

Приготовление рабочего реагента для схемы 1:

Смешать необходимые количества реагентов 1 и 2 в соотношении 4:1. *Не допускать вспенивания!*

Проведение анализа

Длина волны: 340 нм, температура измерений 37°С, кювета 1 см.

Приготовить пробы в соответствии со схемой определения (объёмы компонентов могут быть пропорционально изменены).

Схема 1. *Запуск реакции образцом*

Раствор	Опытная проба, мл
Рабочий реагент	1,0
Инкубировать 5 мин. при температуре 37°С	
Образец	0,1
Пробы тщательно перемешать. Через 60 с измерить оптическую плотность опытной пробы (A_1). Через 60 с повторить измерение (A_2)	

Рассчитать изменение оптической плотности за минуту ($A_1 – A_2$).

Схема 2*. Запуск реакции реагентом 2*

Раствор	Опытная проба, мл
Реагент 1	0,8
Образец	0,1
Перемешать, инкубировать 5 мин. при температуре 37°С	
Реагент 2	0,2
Пробы тщательно перемешать. Через 60 с измерить оптическую плотность опытной пробы (A_1). Через 60 с повторить измерение (A_2)	

Рассчитать изменение оптической плотности за минуту ($A_1 – A_2$).

Расчет

Каталитическую активность АСТ (в Е/л) в исследуемой пробе определяют по формуле:

Е/л = ΔА/мин * F

Величина F при λ=340 нм, длине оптического пути 1 см и 37°С:

F=1746

Фактор F=1746 является теоретически рассчитанным.

Параметры для автоматических биохимических анализаторов серии Mindray BS-120/200/300/330/400

При работе с отдельными реагентами:

Настройки для анализатора	
Тест	AST
№	*
Тип реакции	Кинетика
Измерение против	Воздуха или дистилл. воды
Первичная длина волны	340 нм
Направление	Нисходящая
Время реакции	4-12 комп.
Время инкубации	19
Температура измерений	37°С
Единицы	Е/л
Точность	1
Соотношение реагент/проба	10 : 1
Объем R1	160 мкл
Объем R2	40 мкл
Объем пробы	20 мкл
R1 холост	0–0
Смеш холост реаг	0–0
Диапазон линейности	до 240 Е/л
Предел линейности	-
Чувствительность	не более 15 Е/л
Коэффициент вариации	не более 5%
Верхний пределе абсорбции реагента против воды	2 Е
Нижний пределе абсорбции реагента против воды	0,8 Е
Предел субстр	0
Коэффициент	-
КАЛИБРОВКА	
Правило калибровки	Двухточечная линейная
Чувствительность	0
Повторы	2
Интервал	0
SD	-
Холостой ответ	0
Предел ошибки	0
Коэффициент корреляции	-

При работе с Рабочим реагентом меняются следующие параметры:

Время реакции	4-12 комп.
Время инкубации	-
Единицы	Е/л
Точность	1
Объем R1	150 мкл
Объем R2	-
Объем пробы	15 мкл

Правило калибровки – линейная, на выбор:
Двухточечная линейная (физраствор/вода +стандарт из набора 1-го уровня)
Двухточечная линейная (физраствор/вода + мультикалибратор 1-го уровня)
Многоточечная линейная (физраствор/вода + стандарт из набора 1-го уровня + разведенный 1:1 стандарт из набора в качестве 2-го уровня)
Многоточечная линейная (физраствор/вода + мультикалибратор 1-го уровня +мультикалибратор 2-го уровня)

Нормальные значения

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

Примечания

- Использовать только для диагностики in vitro.
- Реагенты содержат азид натрия в качестве консерванта: избегать попадания на кожу и слизистые!
- Пробы, содержащие АСТ с активностью выше 240 Е/л (изменение оптической плотности за 1 минуту (ΔА/мин) составляет более 0,135) , разводят 0,9% раствором NaCl в соотношении 1:1, а полученный результат умножают на 2. А в случае слишком низких значений активности АЛТ пробы необходимо развести 0,9% раствором NaCl в соотношении 1:9, а полученный результат умножают на 10.
- Реагенты пригодны к использованию, если оптическая плотность рабочего реагента больше 0,900 (измерять при комнатной температуре относительно дистиллированной воды при длине волны 340 нм в кювете с длиной оптического пути 1 см).

Перерасчет единиц

1 Е/л = 1 мкмоль/(мин*л)
1 кат/л = 1 моль(сек*л)
1 мккат/л = 60 Е/л

Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться при температуре 2-8°С в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (12 месяцев) в темном месте. Рабочий реагент стабилен в течение 7 дней при температуре 2-8°С или 48 часов при температуре 15-25°С.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru