

REF 10206-4 4 x 28 мл / 10 мл

АСПАРТАТ АМИНОТРАНСФЕРАЗА (АСТ)

Каждый контейнер содержит полезный объем из 28 мл реагента R1; бутылка объемом 10 мл содержит 10 мл реагента R2.

НАЗНАЧЕНИЕ

Реагент АСТ EasyRA предназначен для количественного определения ферментов аспартат-аминотрансферазы в человеческой сыворотке и плазме (с литий-гепарином в качестве антикоагулянта) с помощью клинического биохимического анализатора MEDICA EasyRA®. Показатели содержания аспартат-аминотрансферазы используются для диагностирования и лечения определенных типов заболеваний печени и сердечно-сосудистой системы.

Для диагностического применения *in-vitro*. Только для профессионального использования.

КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ И ОБОСНОВАНИЕ

Аспартат аминотрансфераза — это фермент, содержащийся преимущественно в печени, сердце, эритроцитах и мышечной ткани.¹ Повреждение клеток этих тканей приводит к увеличению АСТ в сыворотке, пропорциональному степени повреждения. Уровень АСТ также значительно повышен у пациентов при вирусном гепатите и циррозе, а также при инфаркте миокарда^{2,3}.

ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ

Анализ основан на серии нижеописанных реакций. Сначала фермент АСТ катализирует перенос аминной группы Аспартата на α-Кетоглутарат (α-KG) с образованием L-глутамата и оксалоацетата (ОАА).

АСТ

L-Аспартат + α-KG → ОАА + L-Глутамат

ОАА затем восстанавливается до L-малата, реагируя с NADH в реакции, катализируемой малат дегидрогеназой (MDH).

MDH

ОАА + NADH + H⁺ → L-Малат + NAD⁺

В этой второй реакции количество NADH, окисляемое до NAD, приводит к уменьшению оптической плотности до 340 нм. Это уменьшение отслеживается спектрофотометрически и прямо пропорционально активности АСТ в сыворотке. Лактат дегидрогеназа (ЛДГ) включена в реагент для быстрого восстановления любого пирувата, присутствующего в сыворотке, и для минимизации интерференции в анализе. Этот начальный метод был разработан Karmen^{4,5} и оптимизирован Bergmeyer, et al.⁶ Методология анализа АСТ EasyRA основана на методе, рекомендованном IFCC.⁷

РЕАГЕНТЫ

Буферный реагент АСТ (R1):

Tris буфер, pH 7,65 (30 °C)	110 ммоль/л
L-Аспартат	320 ммоль/л
ЛДГ (микроорганизм)	≥ 1200 ед/л
MDH (свиная мышца)	≥ 800 ед/л

Субстратный реагент АСТ (R2):

α-кетоглутарат	85 ммоль/л
NADH (Двунариевая соль)	1 ммоль/л

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. При работе с любыми лабораторными реактивами должны соблюдаться стандарты безопасности надлежащей лабораторной практики. (CLSI, GP17-A3).
2. Реактивы содержат менее 0,1% азиды натрия, который может вступать в реакцию со свинцовыми и медными участками трубопровода с образованием взрывоопасных азидов металлов. Обратитесь к Спецификации по Безопасности для получения информации по риску, потенциальной опасности и безопасности.
3. Как и при любой диагностической процедуре, результаты должны интерпретироваться только в совокупности с результатами всех остальных анализов и клинического обследования пациента.
4. Не используйте вымытые пробирки.

ИНСТРУКЦИИ ПО ОБРАЩЕНИЮ, ХРАНЕНИЮ И СТАБИЛЬНОСТИ

Реагенты R1 и R2 перед использованием следует смешать в контейнере. Нераспечатанный реагент стабилен до даты истечения срока годности на этикетке при температуре хранения 2—8 °C. Рабочий реагент стабилен внутри клинического биохимического анализатора EasyRA в течение срока, запрограммированного на чипе радиочастотной идентификации (RFID) на контейнере реагента. Не используйте реагент если он замутнен или непрозрачен, или если в сыворотке не удалось определить известные контрольные значения. Хранить в защищенном от света месте.

ОТБОР ОБРАЗЦОВ И ХРАНЕНИЕ/СТАБИЛЬНОСТЬ

Для отбора плазмы можно использовать пробирки, покрытые литий-гепарином. Следует использовать прозрачные образцы без признаков гемолиза. АСТ в сыворотке или плазме стабильна до 7 дней при температуре 2—8 °С.^{8,9}

Ограничения

Следует избегать гемолиза, так как концентрация АСТ в эритроцитах примерно в 10 раз отличается от таковой в сыворотке¹⁰. Гемолизированные пробы с количеством гемоглобина ≥ 250 мг/дл могут повышать показатели АСТ на 6 ед/л и более.

ПРОЦЕДУРА

Предоставляемые материалы

Medica АСТ реагент Контейнер/флакон с R2/, REF 10206-4

Необходимые дополнительные материалы

Medica EasyQC® Chemistry/Electrolytes – Уровень А, REF 10793

Medica EasyQC® Chemistry/Electrolytes – Уровень В, REF 10794

Контейнер красителя для точного анализа Medica, REF 10764

Контейнер Medica Cleaner – Chemistry & ISE, REF 10660 или

Контейнер Medica Cleaner – Chemistry, REF 10661

Инструкции по применению

Реагенты R1 и R2 перед использованием следует смешать в контейнере. Реагент R1 находится в контейнере. Добавьте всё содержимое маленькой бутылки, содержащей реагент R2, в контейнер и перемешайте при помощи потряхивания перед использованием. После смешивания всего получится 38 мл годного к использованию рабочего реагента. Удалите колпачок с рабочего реагента и поместите реактив в отделение для реагентов клинического биохимического анализатора EasyRA, расположенное в зоне для реагентов. Автономная стабильность (максимум 44 дня) рабочего реагента запрограммирована в чипе RFID на контейнере реагента.

Примечание: проверьте внутреннюю поверхность горловины контейнера на наличие пены после удаления крышки и помещения контейнера в анализатор. В случае наличия пены удалите ее тампоном или одноразовой пипеткой до проведения исследования.

Калибровка

Не применяется.

Контроль Качества

Рекомендуется проведение двух уровней контроля анализа на основе человеческой сыворотки (нормальный и аномальный) ежедневно при любом заборе образцов у пациентки при каждой смене набора реагентов. Отсутствие верного спектра значений при анализе контрольного материала может указывать на нарушение свойств реагента, нарушение работы оборудования или ошибки в процедуре. При использовании калибраторов лаборатория должна соблюдать указания по контролю качества местных и федеральных властей, а также властей штата.

Результаты

После завершения анализа клинический биохимический анализатор EasyRA рассчитывает концентрацию АСТ по изменению оптической плотности в минуту, объёму образца, общему объёму реакции, длине пути (см), равной 0,6, и молярной абсорбирующей способности, равной 6,22.

$$\text{АСТ (ед/л)} = (\Delta A/\text{мин}) \times \frac{(\text{общий объем (мкл)} \times 1000)}{(\text{молярная абсорбирующая способность} \times \text{длина пути (см)} \times \text{объем образца (мкл)})}$$

Показатель в ед/л активности АСТ является количеством фермента, который окисляет один мкмоль/л NADH в минуту.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ¹¹

Референсный спектр значений АСТ в сыворотке следующий:

Норма: 8-40 ед/л (37 °С)

Эти значения предлагаются в качестве нормы. Из-за существующих различий между приборами, лабораториями и местным населением в каждой лаборатории рекомендуется провести установление собственного диапазона ожидаемых значений.

Ограничения Процедуры (например, если образец выходит за пределы диапазона метода)

Могут использоваться только негемолизированные образцы. Избегайте использования мутных образцов.

Если изменение оптической плотности в минуту ($\Delta A/\text{мин}$) больше, чем 0,0643, что соответствует 400 ед/л, в результате будет виден сигнал «SD» (истощение субстрата). Более высокие показатели изменения оптической плотности выходят за границы линейных значений теста. Если оператор выбирает значок «Re-run», образец можно повторно анализировать, используя

половину (1/2) его объема. Результаты повторного анализа рассчитываются для отображения анализа меньшего объема образца. Благодаря этому регистрируемый диапазон анализа АСТ растягивается до 800 ед/л.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ¹²

Регистрируемый диапазон

Регистрируемый диапазон составляет 5,5–400 ед/л. Растянутый диапазон составляет 5,5–800 ед/л, если используется половина объема образца сыворотки (раствор 1:1).

Погрешность/Корреляция (CLSI, EP09-A2)

В следующей таблице приведены данные, полученные при сравнении нового реагента для АСТ (y) в клиническом биохимическом анализаторе Medica EasyRA с характеристиками предыдущего реагента для АСТ (x) в клиническом биохимическом анализаторе EasyRA. Приведенные ниже данные являются показателями однократных измерений, полученных с новым реагентом Medica для АСТ в клиническом биохимическом анализаторе EasyRA против среднего от двух повторных значений, полученных предыдущим реагентом Medica для АСТ в клиническом биохимическом анализаторе EasyRA.

Количество образцов	80	Размах выборки	10,3—389,5 ед/л
Угловой коэффициент	1,0203	Отрезок, отсекаемый на оси y	-1,183
Коэффициент корреляции	0,9997	Уравнение регрессии:	$Y = 1,0203 \cdot X - 1,183$

В следующей таблице приведены данные, полученные в сравнении парных образцов сыворотки (x) и плазмы (y) с использованием реагента Medica для АСТ в клиническом биохимическом анализаторе EasyRA. Приведенные ниже данные являются показателями однократного измерения плазмы в сравнении со средним двух повторных значений сыворотки.

Количество образцов	60	Размах выборки	от 10,6 до 340,4 ед/л
Угловой коэффициент	0,9902	Отрезок, отсекаемый на оси y	0,3133
Коэффициент корреляции	0,9988	Уравнение регрессии	$Y = 0,9902 \cdot X + 0,3133$

Расхождение результатов (CLSI, EP05-A2)

Повторные измерения каждого из трех уровней калибровочного (QC) материала проводились дважды в день в течение 20 дней. Из этих данных определялись точность внутри ряда измерений и общая точность.

Погрешность внутри ряда измерений:

Уровень QC ед/л	СО внутри ряда измерений ед/л	КВ внутри ряда измерений %
234,9	1,76	0,75
102,8	0,82	0,79
37,8	1,08	2,86

Общее расхождение результатов:

Уровень QC ед/л	СО общего расхождения результатов: ед/л	КВ общего расхождения результатов: %
234,9	1,97	0,84
102,8	1,14	1,11
37,8	1,23	3,25

Линейность (CLSI, EP06)

Линейные от 5,5 до 400 ед/л, основываясь на линейной регрессии $Y = 0,9975 \cdot X + 0,0049$

Граница пустого образца (LOB): 3,1 ед/л (CLSI, EP17-A)
Предел обнаружения (LOD): 4,1 ед/л (CLSI, EP17-A)

Вещества, создающие помехи (CLSI, EP07)

Менее 10% интерференции классифицировалось как «отсутствие значимой интерференции».

Существует значимая помеха, связанная с гемолизом. Следует избегать гемолиза, так как концентрация АСТ в эритроцитах примерно в 10 раз отличается от таковой в сыворотке. Не используйте гемолизованные образцы.

Отсутствие значимой интерференции было найдено для значений билирубина до 28 мг/дл.

Отсутствие значимой интерференции было найдено для значений триглицеридов до 1500 мг/дл (с использованием Intralipid*).

Отсутствие значимой интерференции было найдено для значений аскорбиновой кислоты до 30 мг/дл.

**Intralipid* является зарегистрированной торговой маркой Pharmacia AB, Clayton, NC.

Юнг приводит список лекарственных средств и других веществ, которые создают помехи при клинических лабораторных исследованиях^{13, 14}.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Wilkensen JH. *Principles and Practice for Diagnosis Enzymology*. YearBook Medical Publishers, 1976.
- 2 Kachmar JR: *Enzymes. In Fundamentals of Clinical Chemistry*, NW Tietz, Editor, Saunders, Philadelphia 1976, p. 674.
- 3 Sacks HJ, Lanchantin GF; *An elevation of serum transaminase in the jaundice state. Am J Clin Pathol* 33:97, 1960.
- 4 Karmen A., Wroblewski E, La Due JS. *J Clin. Invest.* 1955; 34: 126.
- 5 Karmen A., *J. Clin. Invest.* 1955; 34: 131.
- 6 Bergmeyer HU, Scheibe P, Wahlefeld AW. *Clin Chem* 24: 58, 1978.
- 7 Expert Panel of Enzymes of the International Federation of Clinical Chemistry (IFCC): *Part 3 Revised IFCC method for Aspartate Aminotransferase. Clin Chem* 24:720 1978.
- 8 IFCC. *Provisional Recommendation on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentrations of Enzymes. Clin Chem* 23: 887, 1977.
- 9 Guder WG, Zawta B et al. *The Quality of Diagnostic Samples*. 1st ed. Darmstadt: GIT; 2001;p. 18-19
- 10 Demetriou JA et al. *In Clinical Chemistry – Principles and Technics* 2nd ed. RJ Henry et al. Eds. Harper & Row, Hagerstown, MD 1974, p 873.
- 11 Tietz NW, ed. *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1995: 76.
- 12 Неопубликованные данные Medica.
- 13 Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*, 2nd ed. Washington, DC: AACC Press; 1997.
- 14 Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995.

ПАРАМЕТРЫ АНАЛИЗА EASYRA (ACT)

Длина волны (нм)	340/405 нм
Тип реакции	Фермент (0)
Направление изменения реагента	Уменьшение
Пустой реагент	Нет
Пустой образец	Нет
Максимальный первый интервал. Отсутствие изменения	0,026
Время реакции	7,2 мин.
Периодичность калибровок (максимальная)	Нет данных
Автономная стабильность реагента	44 дня

Сыворотка/плазма

Объем образца (мкл)	8
Объем растворителя (мкл)	32
Объем реактива (мкл)	144
Разделители десятичных дробей	1
Единицы (по умолчанию)	ед/л
Фактор разведения	1:1 (для расширения спектра измерения)
Линейность	от 5,5 до 400 ед/л

