

**Інструкція  
для медичного використання  
Набір реактивів для визначення активності аспартатамінотрансферази в сироватці крові**

Набори реактивів для визначення концентрації аналітів у біологічних рідинах  
ТУ У 20.5-20650786-002:2014

Набір призначений для кількісного визначення активності аспартатамінотрансферази в сироватці крові по кінцевій точці динітрофенілгідразиним методом в клініко-діагностичних лабораторіях та розрахований на проведення 200 визначень при витраті на одне визначення 0,25 мл субстратного розчину.

#### Принцип методу

В наборі використовується уніфікований метод Райтмана-Френкеля.

В результаті переамінування під дією аспартатамінотрансферази утворюється щавлева та піровиноградна кислоти які з 2,4-динітрофенілгідразиним в лужному середовищі утворюють забарвлені гідрозони піровиноградної та щавлевої кислот. Їх оптична щільність пропорційна активності ферменту і вимірюється фотометрично при довжині хвилі 500-560 нм.

#### Склад набору

1	Субстратно-буферний розчин АсАТ (фосфатний буфер 0,1 моль/л; 2-оксо-глутарова кислота 2 ммоль/л; DL-аспарагінова кислота 0,2 моль/л)	50 мл
2	Розчин 2,4-динітрофенілгідразину (1 ммоль/л в 1 моль/л HCl)	50 мл
3	Розчин гідроксиду натрію 8 моль/л	25 мл
4	Калібрувальний розчин піровинограднокислого натрію 2 ммоль/л	3 мл

#### Аналітичні характеристики

Лінійність	до 3 мкмоль/год·мл
Коефіцієнт варіації	не більше 6%
Час проведення аналізу	95 хв
Температура інкубації	37 °С

#### Зразки

Негемолізована сироватка крові.

#### Обладнання та реагенти

- Фотометричне обладнання, що здатне вимірювати оптичну щільність розчинів на довжині хвилі 500-560 нм з оптичним шляхом 1 см.
- Термостат, здатний підтримувати температуру 37°С.
- Секундомір.
- Колба мірна місткістю 1000 мл (ГОСТ 1770-79).
- Піпетки 5, 1, 0,1мл (ГОСТ 29227-91).
- Пробірки місткістю 10 мл.
- Вода дистильована.
- Фізіологічний розчин.

#### Підготовка до проведення аналізу

Вміст флакону з 25 мл розчином гідроксиду натрію кількісно перенести в мірну колбу на 500 мл, довести розчин до мітки дистильованою водою (прокип'яченою і охолодженою) і перемішати. Отримали 0,4 М розчин гідроксиду натрію.

Розчин стійкий. Зберігайте в добре закритій поліетиленовій тарі при температурі +2+25 °С.

Субстратно-буферний розчин готовий до роботи.

Розчин 2,4-динітрофенілгідразину готовий до роботи.

Калібрувальний розчин піровинограднокислого готовий до роботи.

#### Проведення аналізу

Проведення аналізу проводять згідно схеми вказаної нижче:

Відмірити, мл	Дослідна проба, мл	Контрольна проба, мл
Субстратно-буферний розчин	0,25	0,25
Інкубують 5 хв при 37°С		
Сироватка крові	0,05	-
Вода дистильована	-	0,05
Інкубують 60 хв при температурі 37°С		
Розчин 2,4-динітрофенілгідразину	0,25	0,25
Перемішують і витримують при кімнатній температурі 20 хв		
Розчин 0,4 М гідрооксиду натрію	2,5	2,5
Перемішують і витримують при кімнатній температурі 10 хв		

Виміряти оптичну щільність дослідної проби проти контрольної проби на фотометрі при довжині хвилі 500-560 нм (зелений світлофільтр) в кюветі з довжиною оптичного шляху 1 см.

Розрахунок активності ферменту в сироватці крові проводять по калібрувальному графіку. Для цього на осі ординат відмічають різницю оптичних щільностей дослідної і контрольної проби, а на осі абсцис знаходять відповідне їм значення активності АсАТ.

### Побудова калібрувального графіка

Із калібрувального розчину піровинограднокислого натрію готують ряд розведень:

№ Пробірки	Калібрувальний розчин піровинограднокислого натрію, мл	Фізіол. розчин, мл	Субстратно-буферний розчин, мл	Вміст піровиноградної кислоти в пробі, мкмоль	Активність АсАТ		
					мккат/л	мкмоль/год·мл	од/л
1	0,05	0,1	0,45	0,1	0,278	1,0	16,7
2	0,10	0,1	0,40	0,2	0,556	2,0	33,4
3	0,15	0,1	0,35	0,3	0,833	3,0	50,0
4	0,20	0,1	0,30	0,4	1,112	4,0	66,7
5	0,25	0,1	0,25	0,5	1,390	5,0	83,4
К	-	0,1	0,50	-	-	-	-

К – контрольна проба.

Розчини перемішують і додають по 0,5 мл розчину 2,4-динітрофенілгідазину, струшують і витримують 20 хв при кімнатній температурі. Додають по 5 мл 0,4 М гідроокису натрію і залишають ще на 10 хв для розвитку забарвлення.

Вимірюють оптичну щільність на фотометрі при довжині хвилі 500-560 нм (зелений світлофільтр) в кюветі з довжиною оптичного шляху 1 см проти контрольної проби. По осі ординат відкладають величину оптичної щільності, по осі абсцис – активність АсАт, виражену в мікромолях піровиноградної кислоти на 1 мл сироватки за 1 годину інкубації (кмоль/год·мл), або в мккат/л, або в од/л.

### Співвідношення одиниць вимірювання:

$$\text{Од/л} \times 0.01667 = \text{мккат/л}, \quad \text{мккат/л} \times 3.6 = \text{мкмоль/год} \cdot \text{мл}$$

### Контроль якості

Контроль дійсності вимірювання проводять на контрольних сироватках з відомою активністю АсАТ, атестованих методом Рейтмана-Френкеля - «Біоконт С» (Росія), «Ліонорм» (Чехія) та інших.

**Нормальні значення активності АсАТ:** 0,1 – 0,45 мкмоль/ год·мл або 0,028 – 0,126 мккат/л при 37°C.

### Застереження

• Якщо величина оптичної щільності вища за 0,3. То сироватку слід розвести в 5-10 разів інактивованою сироваткою або 3% розчином альбуміну у фізрозчині. Результат множать на коефіцієнт розведення. Розведення більше ніж в 10 разів дає хибно завищений результат.

• Хибно завищений результат дає підвищена концентрація речовин, що містять кето групу (в сироватці діабетиків). В такому випадку потрібно ставити контрольну пробу з сироваткою (без фізрозчину) як і дослідну, тільки сироватку добавляти після інкубації (після розчину 2,4-динітрофенілгідазину). Оптичну щільність визначають як різницю оптичної щільності дослідної проби і контрольної проби з сироваткою.

### Запобіжні заходи

Набір призначений для in vitro діагностики професійно підготовленим лаборантом.

Роботи потрібно виконувати в захисних рукавичках, оскільки кров людини слід розглядати як потенційно інфіковану.

Слід виконувати правила безпеки при роботі з їдкими та отруйними речовинами, оскільки набір містить гідроокис натрію, який є їдкою речовиною та азид натрію в субстратно-буферному розчині, який є отруйною речовиною.

### Умови зберігання

Реактиви з яких складається набір зберігати при температурі від +2°C до +8°C.

### Література

1. Reitman S., Frankel S. – Am.J.Clin.Pathol., 1957, 28, 56.
2. Камышников В.С. «Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике», т.1, стр.382-395, Минск, «Беларусь», 2000.

**Виробник:** ТОВ «Генезіс», Україна.

**Адреса:** 27503, м.Світловодськ, Кіровоградська обл., вул.Єгорова, 41.