***** Уповноважений представник в Україні: ТОВ «АЛЬБАМЕД», (ідент. Код – 41424340) м. Київ, вул. Підлісна, буд. 1, офіс 27, тел:+38 (067) 509-64-91б E-mail:* *albamed.ua@gmail.com*

*Цей продукт є одноразовим діагностичним реагентом in vitro. Будь-ласка, використовуйте його протягом терміну придатності, тільки для професійного використання. Утилізуйте використаний продукт відповідно до місцевих органів влади, правил і протоколу утилізації щодо біологічної небезпеки.*

|  |
| --- |
| Аденозиндезаміназа (ADA)  MonlabTest® Колориметричне – Кінетичне тестування |

Кількісне визначення аденозиндезамінази (ADA) у зразках сироватки та плазми крові

Тільки для професійного використання у діагностиці *in vitro*. Зберігати при температурі 2 - 8°C.

ПРИНЦИП ДІЇ МЕТОДУ

 Аналіз на визначення ADA заснований на ферментативному дезамінуванні аденозину до інозину, який перетворюється на гіпоксантин пуринової нуклеозидфосфорілази (PNP). Потім гіпоксантин перетворюється на сечову кислоту та перекис водню (H2O2) під дією ксантиноксидази (XOD). H2O2 далі реагує з N-етил-N-(2-гідрокси-3-сульфопропіл)-3-метиланіліном (EHSPT) і 4- аміноантипірином (4-AA) в присутності пероксидази (POD) з утворенням хінонового барвника, який контролюється кінетично. Вся схема ферментативної реакції показана нижче

Аденозин + H2O --ADA→ Інозин + NH3Інозин + Pi --PNP→ Гіпоксантин + Рибоза 1-фосфат
Гіпоксантин + 2H2O + 2O2 --XOD→ Сечова кислота + 2H2O22H2O2 + 4-AA + EHSPT --POD→ 4H2O + Барвник хінон (макс. 556 нм)

Одна одиниця ADA визначається як кількість ADA, що генерує один мкмоль інозину з аденозину за хвилину при 37°C.

КЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

ADA - це фермент, що каталізує реакцію дезамінування аденозину на інозин. Фермент широко поширений у тканинах людини, особливо високо у Т-лімфоцитах. Підвищення активності ADA у сироватці крові спостерігалося у пацієнтів з гострим гепатитом, алкогольним фіброзом печінки, хронічним активним гепатитом, цирозом печінки, вірусним гепатитом та гепатомою1,2. Підвищення активності ADA також спостерігалось у пацієнтів із туберкульозними випотами 3. Визначення активності ADA у сироватці крові пацієнтів може додати унікальні значення в діагностику захворювань печінки в сполученні з тестами на АLТ або y-GT (GGТ). Аналіз ADA може бути корисним у діагностиці туберкульозного плевриту 3.

РЕАГЕНТИ

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **R1** | Tris HCL ph 8,0 | 50 мм |
| 4-AA | 2 мм |
| PNP | 0,1 од./мл |
| XOD | 0,2 од./ мл |
| Пероксидаза | 0,5 од./мл |
| **R2** | Tris HCL ph 4,0 | 50мм |
| Аденозин | 10 мм |
| ENSPI | 2 мм |
| **ADA CAL** | Ref. (Посилання) МО-165178 |

ПІДГОТОВКА

Реагенти готові до використання. Калібратор та контроль ADA знаходяться у ліофілізованій формі, й перед використанням їх необхідно повторно залити 1,0 мл дистильованої води.

ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

 R1 чутливий до світла, його треба зберігати у темному місці.

 Розчин R1 та CAL містять азид натрію. Уникайте проковтування або контакту зі шкірою або слизовими оболонками. У разі контакту зі шкірою промийте уражену ділянку великою кількістю води. У разі попадання в очі або при проковтуванні негайно зверніться за медичною допомогою.

Усі зразки, що використовуються в даному тесті, слід вважати потенційно заразними.

КАЛІБРУВАННЯ

Рекомендується калібрувати цей аналіз за допомогою калібратора ADA MO-165178, що входить до набору.

**ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ**

 Усі компоненти набору є стабільними до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати їх щільно закритими при температурі 2-8°C, захищати від світла та не допускати забруднення під час їх використання.

 Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності.

Стабільність: 1 місяць при температурі 2-8°C після відкриття, якщо уникати забруднення та закупорювати флакони відразу після використання.

**Ознаки псування реагенту:**

Наявність частинок та каламутність.

ДОДАТКОВЕ ОБЛАДНАННЯ

- Спектрофотометр або колориметр, що вимірює при 540/550 нм.

- Термостатична ванна при 37°C (± 0,1°C).

- Відповідні кювети з довжиною світового шляху 1,0 см.

- Загальне лабораторне обладнання.

ПРОБИ

Свіжа сироватка та негемолізована сироватка або плазма.

Стабільність: 7 діб при 2-8°C.

ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

1. Умови проведення аналізу:

Довжина хвилі: 550 нм

Кювета: 1 см шлях світла

Постійна температура: 37°C

1. Змішайте 5 мкл проби з 180 мкл R1 та інкубуйте при 37°С протягом 3 хв.
2. Додайте в кювету 90 мкл R2, змішайте та витримайте 5 хвилин.
3. Зчитайте початкову абсорбцію та запустіть таймер одночасно, повторіть зчитування через 3 хвилини.
4. Розрахуйте зміну абсорбції в хвилину (DA/хв).
5. Утилізуйте всі зразки та матеріали, які використовувались для проведення випробування, як біологічно небезпечні відходи.

РОЗРАХУНКИ

$$ADA \left(ОД/Л\right)=\frac{ΔА проба /хвил.}{ΔА калібратор /хвил }х значення калібратора$$

Одиниці: Одна міжнародна одиниця (ОД) - це кількість ферменту,яка трансформує 1 мкмоль субстрату за хвилину в стандартних умовах. Концентрація виражається в одиницях на літр проби (ОД/л).

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Контролювання сироватки рекомендуються для моніторингу ефективності процесу аналізу: ADA контр.посилання MO-165179 (2 рівня).

Якщо контрольні значення виходять за межі встановленого діапазону, перевірте прилад, реагенти та методику на наявність проблем.

Кожна лабораторія повинна встановити власну схему контролю якості та коректуючої дії, якщо контрольні значення не відповідають допустимим.

РЕФЕРЕНТНІ ЗНАЧЕННЯ

0-15 ОД/л

Ці значення наведені з орієнтовною метою; кожна лабораторія повинна встановити свій власний еталонний діапазон.

**РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

Лінійність: Аналіз є лінійним до концентрації ADA 200 Од/л.

Якщо отримані результати перевищують границю лінійності, розбавте пробу 1/2 NaCl 9 г/л та умножте результат на 2.

Достовірність: В дослідженні були протестовані два зразка сироватки, що містять 11 и 30 Од/л ADA, по 2 проби на день с дублюванням протягом 15 робочих днів.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | В ході запуску (N=30) | Виконання (N=30) |
|  | 11 Од/л | 30 Од/л | 11 Од/л | 30 Од/л |
| Значення (Oд/л) | 11,11 | 30,74 | 9,63 | 29,62 |
| Статистичне відхилення SD | 0,16 | 0,45 | 0,47 | 0,59 |
| Коефіцієнт варіації CV (%) | 1,47 | 1,45 | 4,90 | 2,00 |

Чутливість: Мінімальна концентрація ADA, що може бути виявлена, з допустимим рівнем точності була визначена як 0 Од/л.

Результати робочих характеристик залежать від аналізатора, що використовується.

СПОТВОРЕННЯ ТА ДОМІШКИ

Білірубін (до 30 мг/дл), гемоглобін (до 200 мг/дл), тригліцериди (до 750 мг/дл) і аскорбінова кислота (до 4 мг/дл) не вносять спотворення результатів.

**ПРИМІТКИ**

MONLAB має інструкції для декількох автоматичних аналізаторів. Інструкції для багатьох з них надаються за запитом.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Kobayashi F, Ikeda T, Marumo F, Sato C: Adenosine deaminase isoenzymes in liver disease. Am. J. Gastroenterol. 88: 266-271 (1993)
2. Kallkan A., Bult V., Erel O., Avci S., and Bingol N. K. : Adenosine deaminase and guanosine deaminase activities in sera of patients with viral hepatitis. Mem Inst. Oswaldo Cruz 94(3) 383-386 (1999)
3. Burgess LJ, Maritz FJ, Le Roux I, et al. Use of adenosine deaminase as a diagnositic tool for tuberculous pleurisy. Thorax 50: 672-674 (1995).

**ПАКУВАННЯ**

|  |  |
| --- | --- |
| МО -165177 | R1: 1х40 мл |
| R2: 1х20 мл |
| CAL: 1х1 мл |

**СИМВОЛИ ТА ПОЗНАЧЕННЯ ДЛЯ КОМПОНЕНТІВ І РЕАГЕНТІВ ДІАГНОСТИКИ IN VITRO**

****

Посилання: MO-165177 Rev: листопад 2015

Monlab SL Сельва де Мар 48 08019 Барселона (Іспанія) тел. +34 93 433 58 60 факс +34 93 436 38 94 pedidos@monlab.com [www.monlab.com](http://www.monlab.com)