

«ПОГОДЖЕНО»

Перший заступник голови Державної
служби України з лікарських засобів

09 листопада 2012 р.

І.Б. Демченко

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар клінічної лікарні „Феофанія”
Державного управління справами

30 жовтня 2012 р.

І.П. Семенів

REF №HP003.02

ТУ У 24.4-24607793-017-2003

ІНСТРУКЦІЯ ДО НАБОРУ РЕАКТИВІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ АЛЬФА-АМІЛАЗИ У БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ КІНЕТИЧНИМ ОПТИМІЗОВАНИМ МЕТОДОМ

ПРИЗНАЧЕННЯ

IVD

Набір призначений для кількісного визначення активності α -амілази у біологічних рідинах в клініко-діагностичних, біохімічних лабораторіях і науково-дослідницькій практиці.

Набір розрахований на **50 мікрОВизначень** (при витраті робочого розчину 1 мл на визначення).

Діапазон визначаємих активностей - від 7 МОд/л до 1500 МОд/л.

Коефіцієнт варіації у серії - не більше 5 %.

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* професійно навченим лаборантом.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Під дією α -амілази синтетичний субстрат CNP-G3 (олігосахарид, мічений галогенізованим похідним пара - нітрофенолу) гідролізується з утворенням вільного галогенізованого похідного пара -нітрофенолу, що має максимум поглинання при довжині хвилі 405 нм. Виміряний за одиницю часу приріст оптичної щільності реакційної суміші прямо пропорційний активності α -амілази в дослідному зразку. Особливістю даного субстрату, що відрізняє його від інших синтетичних субстратів α -амілази, є одностадійність ферментативного гідролізу і практично ідентична його афінність до активних центрів різних ізоформ α -амілази, що істотно підвищує коректність і відтворюваність отриманих результатів.

СКЛАД НАБОРУ

1. Реагент на α -амілазу рН (6,0 \pm 0,1) - 1 флакон з (50 \pm 2) мл;
 - MES – 50 ммоль/л;
 - CaCl₂ – 2 ммоль/л;
 - NaCl – 100 ммоль/л.
 - CNP-G3 – 5 ммоль/л;

ЗРАЗОК^{1,7)}

Сироватка крові, ЕДТО або гепаринізована плазма. Гемоліз неприпустимий. Центрифугувати кров щонайшвидше. Зразки стабільні при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С до 30 діб.

Сеча. Зразки нестабільні в кислому середовищі. Довести кислотність зразка до значення рН 7 перед зберіганням. Зберігати при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С не більше 7 діб.

ОБЛАДНАННЯ

1. Фотометричне обладнання, здатне вимірювати оптичну щільність розчинів при довжині хвилі **405 (400-415)** нм у діапазоні (0-1,0) од. опт. щільності та довжині оптичного шляху 10 мм.
2. Водяний термостат або баня, яка забезпечує інкубацію пробірок при температурі плюс (37,0 \pm 0,3) °С.
3. Пробірки місткістю 10 мл (ГОСТ 1770-74).
4. Піпетки місткістю 0,1 та 5 мл (ГОСТ 29227-91).

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

Реагент на α -амілазу. Придатний до використання. Розчин стабільний після першого розкриття оригінальної упаковки протягом 4 тижнів при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С. Ретельно закривайте флакон безпосередньо після кожного використання реактиву. **Розчин світлочутливий.** Максимальна екстинція Реагенту на α -амілазу проти води при 405 нм - **0,3** од. опт. щільності.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Аналіз проводиться у відповідності зі схемою, наведеною в таблиці 1.

Таблиця 1

Температура	плюс 37 °С	
	макро	мікро
Піпетувати, мкл		
Реагент на α -амілазу	5000	1000
Сироватка або плазма	100	20
Реагент на α -амілазу	5000	1000
Сеча	50	10

Витримати **Реагент на α -амілазу** до вибраної температури проведення аналізу 3 хв (для 1 мл, якщо більше, то 5 хв) у кюветі. Введіть аналізуємий матеріал в **Реагент на α -амілазу**, ретельно перемішайте та через 1 хв зчитуйте екстинцію (E_1) по відношенню до повітря або дистильованої води. Потім зчитуйте екстинцію (E_2) ще через 3 хв по відношенню до повітря або дистильованої води. Розрахуйте середнє змінєння екстинції за 1 хв. ($\Delta E/\text{хв}$).

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

Фотометрування – див. розділ «Обладнання».

РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Розрахунок активності α -амілази ведуть за формулами (1) для сироватки (плазми) або (2) для сечі.

$$\text{Активність } \alpha \text{ - амілази (у сироватці/абоплазмі)} = \Delta E / \text{хв} \times 3954 \times K, \text{ МОд/л} \quad (1)$$

$$\text{Активність } \alpha \text{ - амілази (у сечі)} = \Delta E / \text{хв} \times 7908 \times K, \text{ МОд/л, де} \quad (2)$$

K - коефіцієнт розведення зразка (якщо він був розведений);

3954 та 7908 - відповідні фактори перерахунку (приведені для 2-хлор-4-нітрофенолу), МОд/л.

НОРМАЛЬНІ МЕЖІ АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТУ ПРИ 37°С²⁾

Сироватка, плазма крові - до 98 МОд/л;

Сеча - до 450 МОд/л

Добова сеча - до 400 МОд/л

Дані величини орієнтовні, рекомендується визначення власних нормальних величин в кожній лабораторії.

ПРИМІТКИ

1. Якщо активність α -амілази в зразку 1500,0 МОд/л (25 мккат/л), його розбавляють у 10 раз фізіологічним розчином. Аналіз повторюють з урахуванням коефіцієнту розведення 10.

2. Активність фермента α -амілази залежить від температури. Аналіз, що виконується при температурі менше плюс 37 °С або більше плюс 37 °С, показує відповідне зменшення або збільшення величини активності.

УВАГА! Постійно пам'ятайте про те, що слина і поверхня шкіри людини містять даний фермент у великій кількості. Щоб уникнути отримання хибнопозитивних результатів використовуйте на всіх стадіях преаналітичної підготовки проб і самого аналізу респіратори і рукавички.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для контролю ходу реакції та процедури вимірювання рекомендується використовувати контрольні сироватки із значеннями активності, визначеними даним методом. Наприклад: "Біоконт С" (Росія), "ФілоНорм" або „ФілоПат" (Україна).

При будь-яких дослідженнях атестованих контрольних сироваток як референтне значення можливо застосовувати дані, вказані для методів з вивільненням пара-нітрофенолу з субстрату, отримані при температурі плюс 37°С.

Кожна лабораторія повинна встановити власну внутрішню систему контролю якості.

ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

α -Амілаза каталізує гідроліз α - 1,4 - зв'язку молекул α -D-глюкози. В результаті утворюються декстрини, мальтоза і молекули глюкози.

α -Амілаза синтезується екзокринною частиною підшлункової залози (Р-тип) і слинними залозами (S-тип), виявляється вона і в інших тканинах організму.

Виробник залишає за собою право вносити зміни без попереднього повідомлення. Дата останньої перевірки 21.07.2015

Оцінка активності амілази в сироватці і сечі широко застосовується для діагностики захворювань підшлункової залози.

Збільшення активності α -амілази є високоспецифічним при гострому і хронічному панкреатиті. Окрім цього, гіперамілаземія може бути викликана нирковою недостатністю, гострими станами черевної порожнини, пухлинами легенів і яєчників, патологією слинних залоз, макроамілаземією, кетоацидозом, захворюваннями жовчовивідних шляхів, травмою мозку, хронічним алкоголізмом і споживанням опіатів^{3,8}.

Зниження активності α -амілази вказує на екзогенну недостатність підшлункової залози при атрофії ацинарної тканини і фіброзі органу у хворих, тривало страждаючих даним захворюванням.

1. Сироватка крові:

Активність α -амілази у дітей перших двох місяців низька; вона підвищується до рівня дорослих до кінця першого року життя.

↑. Паротит, панкреатит, обтураційна і стангуляційна непрохідність або інфаркт кишки, ектопічна вагітність, перфорація статевого органу, захворювання жовчних шляхів всіх типів, діабетичний кетоацидоз, кіста або псевдокіста підшлункової залози, перитоніт, макроамілаземія, деякі пухлини легенів і яєчників, ниркова недостатність, ендоскопічна ретроградна холангіопанкреографія, абдомінальна травма, пошкодження черепа, вірусні інфекції, стани після операції, алкоголь.

↓. Недостатність підшлункової залози, виражений муковісцидоз, важке ураження печінки, панкреаскоїмія.

2. Сеча добова:

Див. Сироватка крові. Проте, значення можуть бути нормальними або зниженими при нирковій недостатності макроамілаземії. Амілаза в сечі може залишатися підвищеною протягом 2 тижнів після нападу гострого панкреатиту і може передбачити утворення псевдокісти.

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

ПАРАМЕТРИ ПРОГРАМУВАННЯ

Найменування набору реактивів	α -Амілаза КІН (Сироватка, плазма крові)	α -Амілаза КІН (сеча)
Тип аналізатора (напівавтомат/автомат)	будь-який	будь-який
Метод виміру	Кінетика	Кінетика
Зміна оптичної щільності	Збільшується	Збільшується
Довжина хвилі, нм	405	405
Вимір проти	повітря	повітря
Температура реакції, °C	37	37
Чинник	3954	7908
Концентрація стандарту	-	-
Співвідношення реагент/проба (мкл/мкл)	1000 : 20	1000 : 10
Кількість вимірів, не менше	3	3
Час передінкубації, с	60	60
Час реакції, с	60	60
Одиниці виміру	МОд/л	МОд/л
Верхня межа абсорбції контрольної проби, А	0,5	0,5
Нижня межа абсорбції контрольної проби, А	0	0
Максимально допустиме ΔE /хв, А	0,200	0,200
Межі лінійності	0-1500	0-1500
Максимум норми	98	450
Мінімум норми	0	0
Підтвердження лінійності (так/ні)	так	так

ІНТЕРФЕРЕНЦІЯ

Ліпемія (тригліцериди 26 г/л), гемоглобін до 1.7 г/л та білірубін до 700 мг/л не заважають визначенню^{3,4}.

Проведенню аналізу перешкоджають: цитрати, як антикоагулянт. Гемоліз перешкоджає проведенню аналізу.¹⁾

На хід визначення можуть робити вплив деякі ліки і речовини.^{3,4)}

УТИЛІЗУВАННЯ

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

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

ЛІТЕРАТУРА

1. Ying Foo A et al. Amylase measurement with 2-chloro-4-nitrophenyl maltotrioxide as substrate. Clin Chim 272, 1998; 137-147.
2. McNeely M. Amylase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1112-1116.
3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
5. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
6. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.
7. Энциклопедия клинических лабораторных тестов (под ред. Н.У.Тица). «Лабинформ», Москва, 1997, стр.21-22.
8. McCroskey, R., Chang, T., David, H. and Winn, E., Clin. Chem. 28:1787, (1982).



CP	2216/2003
	09.11.2012



ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика»,
Україна, 49051 Дніпропетровськ, 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: felicit_d@ua.fm http://www.felicity.com.ua

Предлагаем Вашему вниманию ассортимент выпускаемой нами продукции

- для выполнения скрининга и количественного определения аналитов на латексных системах:

Для качественного и полуколичественного определения анти-стрептолизина О (АСЛО), ревматоидного фактора (РФ), С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови человека («Филисит- АСЛО- латекс», «Филисит- РФ - латекс», «Филисит- СРБ – латекс»).

- контрольные материалы для оценки выполнения исследований обмена веществ:

«Филисит-СКВ», «ФилоНорм», «ФилоПат», «Калибратор альбумина 1000 мг/л», «Калибраторы белка», «Калибраторы креатинина», «Калибраторы гемихрома», «МультиКалибратор», «Филисит-КГБС», «Калибраторы глюкозы», «Фило-БФК», «Билирубин-калибратор», «Калибраторы гемоглобина», «Калибраторы цианметгемоглобина», «Креатинин-калибратор»

- наборы реактивов для клинической биохимии для анализаторов открытого типа различных изготовителей:

КИНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДИКИ: «Креатинин-КИН», «ЛДГ», «ЛДГ1», «АЛТ-КИН», «АсАТ-КИН», «Щелочная фосфатаза ДЕА», «Щелочная фосфатаза АМП», « α -Амилаза КИН», «ГГТ-КИН», «Холинестераза- КИН» и

МОНОРЕАГЕНТНЫЕ МЕТОДИКИ (подходят как для ручных методик, так и для анализаторов открытого типа различных изготовителей): «Триглицериды - Ф», «Кальций АРС», «Фосфор-UV», «Альбумин», «Общий белок», «Холестерин Ф», «Холестерин-HDL», «Глюкоза Ф», «Общий белок-УЛ», «Калий», «Кальций», «Магний», «Хлориды-Ф», «Гемоглобин», «Гемоглобин-ГХ», «Мочевая кислота Ф», «Глюкоза МОНО».

- наборы реактивов для клинической биохимии для ручных методик:

«Железо (ЖСС)», «Серогликоиды», «Холестерин», «Общие липиды», «Фруктоза», «Билирубин», «Фосфор», «Хлориды-Т», «Натрий», «Креатинин», «Мочевая кислота», «Мочевина-Д», «Мочевина-У», «Мочевина-ОФА», «Тимолова проба», «АЛТ», «АсАТ», «ГГТ», «Щелочная фосфатаза», « α -Амилаза», «Щелочная фосфатаза НФФ», «Холинестераза-АХХ», «Холестерин-HDL Ф», «Холестерин-LDL Ф».

- наборы реактивов для микробиологических исследований: «Набор для окраски по Граму» (три модификации: с Карболовым фуксином по Цилю, с нейтральным красным и с Сафранином), «Карболовый фуксин (1% раствор)», «Набор для окраски по Цилю-Нильсену», «ЛейкоФарб» (набор для дифференциальной окраски лейкоцитов), «РетикулоФарб» (набор для дифференциальной окраски ретикулоцитов и эритроцитов).