

«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 №НР003.01

ТУ У 24.4-24607793-017-2003

ІНСТРУКЦІЯ ДО НАБОРУ РЕАКТИВІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ АЛЬФА-АМІЛАЗИ У БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ (ПО КАРАВЕЮ)

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 **100 визначень** (при витраті робочого розчину 5 мл на визначення), з урахуванням холостих проб.

Діапазон визначаємих активностей - від 3,0 мг/(с × л) до 36,0 мг/(с × л).

Перерахування: $1 \text{ мг}/(\text{с} \times \text{л}) = 3,6 \text{ г}/(\text{год} \times \text{л}) = 3,6 \text{ мг}/(\text{год} \times \text{мл}) = 0,0036 \text{ г}/(\text{год} \times \text{мл})$

Коефіцієнт варіації у серії - не більше 10 %.

Припустима похибка визначення - не більше 30 %.

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

У присутності α -амілази крохмаль гідролізується до похідних, що не дають кольорової реакції з йодом. Зміна інтенсивності фарбування йод-крохмального комплексу пропорційна активності ферменту в аналізованій пробі.

Остаточне забарвлення реакційної суміші може бути від світло-коричневого до синьо-зеленого в залежності від активності α -амілази.

СКЛАД НАБОРУ

- Буфер рН (7,0 ± 0,1) - 2 флакони по (50 ± 2) мл;
 - фосфат натрію - (200 ± 20) ммоль/л,
 - хлорид натрію - (150 ± 15) ммоль/л.
- Розчин йоду 0,1 Н - 1 флакон з (10,0 ± 0,5) мл;
 - йод - (12,7 ± 1,2) г/л,
 - калій йодистий - (30,0 ± 1,5) г/л,
- Розчин концентрату інгібітору - 1 флакон з (50 ± 2) мл.
- Розчин субстрату - 1 флакон з (5,0 ± 0,5) мл.
 - крохмаль розчинний - (10,0 ± 0,5) мг/мл.

ЗРАЗОК

Свіжа сироватка, гепаринізована плазма, сеча розведена в 10 разів або дуоденальний вміст, розведений в 100 разів фізіологічним розчином. Матеріал стабільний протягом 5 діб при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С.

ОБЛАДНАННЯ

- Фотометричне обладнання, здатне вимірювати оптичну щільність розчинів при довжині хвилі **640 (600-700)** нм у діапазоні (0-1,0) од. опт. щільності та довжині оптичного шляху 10 мм.
- Водяний термостат або баня, яка забезпечує інкубацію пробірок при температурі плюс (37 ± 1) °С.
- Колба мірна місткістю 1000 мл, пробірки місткістю 10 мл (ГОСТ 1770-74).
- Піпетки місткістю 0,1 та 5 мл (ГОСТ 29227-91).

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

- Субстратно-буферний розчин** готують змішуванням буферу і розчину субстрату в співвідношенні **24 : 1**. Отриманий реагент стабільний не менше 7 днів при кімнатній температурі і не менше 15 діб при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С.
- Розчин йоду 0,1 Н**. Придатний до використання. Розчин стабільний після першого розкриття оригінальної упаковки протягом 4 тижнів при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С.

3. Розчин інгібітору одержують розведенням вмісту флакону із Розчину концентрата інгібітору дистильованою водою (див. примітку 3), у мірній колбі, до об'єму 1000 мл. Розчин стійкий.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

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

Таблиця 1

Відміряти у пробірку, мл	Холоста проба	Дослід. проба
Субстратно-буферний розчин	0,50	0,50
Прогріти точно 5 хв при плюс 37 °С у водяному термостаті, наступні реагенти вносити в термостатовані пробірки.		
Зразок	-	0,01
Перемішати і інкубувати при плюс 37 °С точно 5 хв		
Розчин інгібітору	4,50	4,50
Зразок	0,01	-
Розчин йоду 0,1 Н	0,05	0,05
Вимірюють (не пізніше, чим <i>через 10 хв</i>) оптичну щільність дослідної проби ($E_{\text{досл.}}$) і холостої проби ($E_{\text{холост}}$) проти дистильованої води.		
<u>Остаточне забарвлення реакційної суміші може бути від світло - коричневого до синьо - зеленого в залежності від активності α-амілази.</u>		
Фотометрування – див. розділ «Обладнання».		

РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

$$\text{Активність } \alpha - \text{амілази, мг/(с} \times \text{л)} = \frac{E_{\text{холост}} - E_{\text{досл}}}{E_{\text{холост}}} \times 66,6 \times K$$

$$\text{Активність } \alpha - \text{амілази, г/(год} \times \text{л)} = \frac{E_{\text{холост}} - E_{\text{досл}}}{E_{\text{холост}}} \times 240 \times K, \text{ де}$$

$E_{\text{холост}}$ і $E_{\text{досл}}$ – оптичні щільності холостої і дослідної проби відповідно, од. опт. щільності;
K - коефіцієнт розведення зразка (якщо він був розведений).

НОРМАЛЬНІ МЕЖІ АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТУ ПРИ 37°С

Сироватка, плазма крові - (3,3 - 8,9) мг/(с × л) або (12 - 32) мг/(год × мл)
Сеча - до 44 мг/(с × л) або до 120 мг/(год × мл)
Дуоденальний вміст - (1,7 - 4,4) г/(с × л) або (6 - 16) г/(год × мл)

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

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.

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^{4,5}.

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, панкреоектомія.

2. Сеча добова:

Див. Сироватка крові. Проте, значення можуть бути нормальними або зниженими при нирковій недостатності макроамілаземії. Амїлаза 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.

ІНТЕРФЕРЕНЦІЯ

Гемоліз не заважає визначенню.

На хід визначення можуть робити вплив деякі ліки і речовини.³⁾

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).

Кожна лабораторія повинна встановити власну внутрішню систему контролю якості.

ПРИМІТКА

1. Якщо активність α -амїлази в зразку **перевищує 36 мг/(с x л)**, його розбавляють у 10 разів фізіологічним розчином. Аналіз повторюють з урахуванням коефіцієнту розведення 10.

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

3. Обезбарвлення реакційної суміші після додавання **Розчину інгібітору** свідчить про наявність речовин - відновників у воді для приготування **Розчину інгібітору**.

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.

ЗАСТЕРЕЖНІ ЗАХОДИ

1. При роботі використовувати гумові рукавички, заборонено їсти, пити, курити.
2. Розчин концентрату інгібітору - включає соляну кислоту (ідка речовина). Буфер включає азид натрію (отруйна речовина).

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. Saraway W.T., Amer. J. Clin. Path., 1959, vol. 32, p. 97.
2. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник. Под редакцией В.В.Меньшикова. М, Медицина, 1987.
3. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests 4th ed. AACC Press, 1995.
4. Tietz Textbook of Clinical Chemistry 2nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994.
5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.



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.felicit.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 (АСЛ-О), ревматоидного фактора (РФ), С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови человека (**“Филисит- АСЛ-О- 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 цианметгемиглобина», “Креатинин-калибратор”

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

(КИНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДИКИ: “Креатинин-КИН”, “ЛДГ”, “ЛДГ1”, «АлАТ-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 ARS”, ”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”, “Общие липиды”, «Фруктоза», “Билирубин”, “Фосфор”, “Хлориды-Т”, “Натрий”, “Креатинин”, “Мочевая кислота”, “Мочевина-Д”, “Мочевина-У”, “Мочевина-ОФА”, “Тимоловая проба”, “АлАТ”, “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), **«Краситель по Романовскому»** (набор для дифференциальной окраски форменных элементов крови при окрашивании препаратов периферической крови, костного мозга, других биопрепаратов).

А также в ассортименте выпускаемой нами продукции:

- реактив Эрлиха.