

«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

Код за НК 024:2019 – **38502**

REF №**HP003.01**

ТУ У **24.4-24607793-017-2003**

ІНСТРУКЦІЯ ДО НАБОРУ РЕАКТИВІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ АЛЬФА-АМІЛАЗИ У БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ (ЗА КАРАВЕЄМ)

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 %.

Чутливість λ на 0,001 од. оптичної щільності – не більше 0,5 мг/(с × л) (640 нм).

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* тільки кваліфікованим лабораторним персоналом.

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 (згідно з чинними нормативними документами).
- Піпетки місткістю 0,1 та 5 мл (ДСТУ EN ISO 835:2018).

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.

2. **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 через 10 хв) оптичну щільність дослідної проби ($E_{\text{досл.}}$) і холостої проби ($E_{\text{холост}}$) проти дистильованої води. | | |
| Остаточне забарвлення реакційної суміші може бути від світло - коричневого до синьо - зеленого в залежності від активності α-амілази. | | |
| 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;
 К - 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, відповідно до правил GLP (Належної Лабораторної Практики) рекомендується визначення власних нормальних величин в кожній лабораторії, характерних для обстежуваного контингенту.

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, Виробник залишає за собою право вносити зміни без попереднього повідомлення. Дата останньої перевірки **03.03.2020**

ниркова недостатність, ендоскопічна ретроградна холангіопанкреіографія, абдомінальна травма, пошкодження черепа, вірусні інфекції, стани після операції, алкоголь.

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

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 впливати 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).

Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте обладнання, реактиви та можливі технічні проблеми.

Кожна лабораторія повинна встановити власну внутрішню систему контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

ПРИМІТКА

1. Якщо активність α -амїлази в зразку **перевищує 36 мг/(с × 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! 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).

УТИЛІЗАЦІЯ

Всі зразки для аналізу вважають за матеріал, який може бути інфікований, і разом 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.
6. IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997).



ТОВ НВП «Філіцит-Діагностика»,
Україна, 49051 м. Дніпро, 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: filicite@ukr.net <http://www.felicite.com.ua>

Пропонуємо до Вашої уваги асортимент продукції, що випускається нами

НОВИНКИ 2019-2020

- набори реактивів для контролю якості передстерилізаційного очищення та виявлення прихованої крові у біологічному матеріалі **“ПК АЗОПРАМ СКРИН”** та **“ПК ТОЛДІН СКРИН”**.

- набір реагентів для визначення протромбінового часу плазми та визначення концентрації фібриногену (набір **“ФІЛОПЛАСТИН”**).

- набір для використання в якості допоміжного реагенту для роботи з реагентами на основі неповних антитіл при визначенні групи крові, при визначенні резус-фактору, скринінгу антитіл і пробі на індивідуальну сумісність методом конглютинації (**“ЖЕЛАТИНУ РОЗЧИН 10 %”**).

- для виконання скринінгу і кількісного визначення аналітів на латексних системах:

для якісного і напівкількісного визначення анти-стрептолізину О (АСЛ-О), ревматоїдного фактору (РФ), С-реактивного білку (СРБ) в сироватці крові людини (**“Філісіт - АСЛ-О- латекс”**, **“Філісіт - РФ - латекс”**, **“Філісіт - СРБ - латекс”**).

- контрольні матеріали для оцінки виконання досліджень обміну речовин :

“Філісіт-СКВ”, **“ФілоНорм”**, **“Філо-БФК”**, **“ФілоПат”**, **“Калібратор альбуміну 1000 мг/л”**, **“Калібратори білку”**, **“Білірубін-калібратор”**, **“Мультикалібратор”**, **“Калібратори креатиніну”**, **“Калібратори геміхрома”**, **“Філісіт-КГБС”**, **“Креатинін-калібратор”**, **“Калібратори гемоглобіну”**,

“Калібратори глюкози”, **“Калібратори ціанметгемоглобіну”**.

- набори реактивів для клінічної біохімії для *аналізаторів відкритого типу різних виробників:*

КІНЕТИЧНІ МЕТОДИКИ: “Креатинін-КІН”, **“ЛДГ”**, **“ЛДГ1”**, **“АлАТ-КІН”**, **“АСАТ-КІН”**, **“Лужна фосфатаза ДЕА”**, **“Лужна фосфатаза АМП”**, **“ α -АмілазаКІН”**, **“Холінестераза - КІН”**, **“ГГТ-КІН”** і

МОНОРЕАГЕНТНІ МЕТОДИКИ (підходять як для ручних методик, так і для аналізаторів відкритого типу різних виробників: “Тригліцериди-Ф”, **“Кальцій АРС”**, **“Фосфор-UV”**, **“Альбумін”**, **“Загальний білок”**, **“Холестерин Ф”**, **“Холестерин-HDL”**, **“Глюкоза Ф”**, **“Калій”**, **“Магній”**, **“Натрій РН”**, **“Хлориди-Ф”**, **“Гемоглобін”**, **“Гемоглобін-ГХ”**, **“Сечова кислота Ф”**, **“Глюкоза МОНО”**, **“Загальний білок-УЛ”**.

- набори реактивів для клінічної біохімії для ручних методик:

“Залізо (3333)”, **“Сіроглікоїди”**, **“Кальцій”**, **“Загальні ліпіди”**, **“АлАТ”**, **“ГГТ”**, **“Фруктоза”**, **“Білірубін”**, **“Фосфор”**, **“Креатинін”**, **“ α -Амілаза”**, **“АсАТ”**, **“Сечовина-Д”**, **“Лужна фосфатаза”**, **“Сечовина-У”**, **“Сечовина-ОФА”**, **“Тимолова проба”**, **“Білкові фракції”**, **“Холінестераза-АХХ”**, **“Сечова кислота”**, **“Холестерин – HDL Ф”**, **“Холестерин – LDL Ф”**.

- набори реактивів для мікробіологічних досліджень: **“Забарвлення за Грамом”** (три модифікації: з Карболовим фуксином за Цілем, з Нейтральним Червоним і з Сафраніном), **“Карболовий фуксин (1% розчин)”**, **“Забарвлення за Цілем-Нільсеном”**, **“РетикулоФарб”** (набір для диференціального забарвлення ретикулоцитів і еритроцитів), **“Забарвлювач за Романовським”** (набір для диференціального забарвлення формених елементів крові при фарбуванні препаратів периферичної крові, кісткового мозку, інших біопрепаратів).

При виготовленні нашої продукції використовуються високоякісні реактиви провідних фірм, що спеціалізуються на виробництві сировини для діагностичних і аналітичних цілей, таких країн як Австрія, Великобританія, Німеччина, Швейцарія, Японія (наприклад: MERCK, Sigma - Aldrich).

Виробник дотримується принципу безперервного розвитку і залишає за собою право вносити (без попереднього повідомлення) зміни і удосконалення в продукцію.

ДЛЯ ОТРИМАННЯ ДЕТАЛЬНІШОЇ ІНФОРМАЦІЇ ПРО ПОЛІПШЕННЯ, МОДИФІКАЦІЇ І СПЕЦИФІКАЦІЇ І, ЯКЩО У ВАС Є ЯКІ-НЕБУДЬ ПИТАННЯ, БУДЬ ЛАСКА, НЕ СОРОМТЕСЯ ЗВЕРТАТИСЯ ДО НАС БЕЗПОСЕРЕДНЬО.