

«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 – **52940**

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 ϵ 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

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

1. 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.
2. Водяний термостат або баня, яка забезпечує інкубацію пробірок при температурі плюс (37 ± 1) °С.
3. Колба мірна місткістю 1000 мл, пробірки місткістю 10 мл (згідно з чинними нормативними документами).
4. Піпетки місткістю 0,1 та 5 мл (ДСТУ EN ISO 835:2018).

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

1. **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.

УВАГА! НАБІР МОДИФІКОВАНИЙ! ВЕЛИЧИННИ ОПТИЧНОЇ ЩІЛЬНОСТІ ЗНАЧНО БІЛЬШЕ!!!!

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;
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, 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 статевих органів, захворювання жовчних шляхів всіх типів, діабетичний кетоацидоз, кіста або псевдокіста підшлункової залози, перитоніт, макроамілаземія, деякі пухлини легенів і яєчників, ниркова недостатність, ендоскопічна ретроградна холангіопанкреатографія, абдомінальна травма, пошкодження черепа, вірусні інфекції, стани після операції, алкоголь.

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

Виробник залишає за собою право вносити зміни без попереднього повідомлення. Дата останньої перевірки **13.05.2025**

УВАГА! НАБІР МОДИФІКОВАНИЙ! ВЕЛИЧИНИ ОПТИЧНОЇ ЩІЛЬНОСТІ ЗНАЧНО БІЛЬШЕ!!!!

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.

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: "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 -амілази 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 -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.

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 (їдка 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. Caraway 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: filicit@ukr.net <http://www.felicit.com.ua>

УВАГА! НАБІР МОДИФІКОВАНИЙ! ВЕЛИЧИНИ ОПТИЧНОЇ ЩІЛЬНОСТІ ЗНАЧНО БІЛЬШЕ!!!!

Пропонуємо до Вашої уваги асортимент продукції, що випускається нами

НОВИНКИ 2019-2025

Набори реактивів та реагентів:

- для контролю якості передстерилізаційного очищення та виявлення прихованої крові у біологічному матеріалі (набір **“ПК АЗОПРАМ СКРИН”** та набір **“ПК ТОЛІДІН СКРИН”**).
- для контролю якості передстерилізаційного очищення шляхом визначення залишків лужних компонентів миючих засобів (набір **“ЛКМЗ фенолфталеїн СКРИН”**).
- для визначення протромбінового часу плазми та визначення концентрації фібриногену (набір **“ФІЛОПЛАСТИН”** з тромбопластином).
- 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 визначення концентрацій загального та/або прямого білірубіну (**“БІЛІРУБІН ДМСО”**) у сироватці або плазмі крові людини з діметилсульфоксидом (ДМСО).
- для визначення гліколізованого гемоглобіну (**“ГЛІКОГЕМОГЛОБІН ТБК”**) у крові людини.
- для визначення сіалових кислот (**“СІАЛОВІ КИСЛОТИ”**) у біологічних рідинах колориметричним методом.
- для визначення сечовини (**“СЕЧОВИНА UV”**) у біологічних рідинах **кінетичним** уреазним методом.
- для визначення метгемоглобіну (**“МЕТГЕМОГЛОБІН”**) у крові людини спектрофотометричним методом.
- для визначення концентрації β -ліпопротеїдів у сироватці крові і плазмі людини (**“ β -ЛІПОПРОТЕЇДИ”**).
- для рекальцифікації цитратної плазми і цитратної крові (**“КАЛЬЦІЙ ХЛОРИСТИЙ 0,025М”**).
- для визначення концентрації цинку у біологічних рідинах (з 5-Br-PAPS) (**“ЦИНК”**).
- для визначення концентрації міді у сироватці крові (з 3,5-DiBr-PAESA) (**“МІДЬ”**).
- для визначення заліза у сироватці крові (з Хромазуолом В) (**“ЗАЛІЗО САВ”**).
- для визначення % карбоксигемоглобіну у крові людини (**“КАРБОКСИГЕМОГЛОБІН”**).
- для визначення концентрації молочної кислоти (лактату) у плазмі та СМР людини (**“ЛАКТАТ”**).
- для клінічного аналізу спинномозкової рідини (**«СМР СКРИН»**)(з реактивом Самсона).
- для використання в якості допоміжного компонента для мікроскопічних методів (**«Імерсійна олія для мікроскопії»**).
- для використання як фіксатор під час оброблення біологічних тканин або клінічних зразків(**«Рідина Карнуа»**).
- для використання як фіксатор під час оброблення біологічних тканин або клінічних зразків(**«Рідина Карнуа А»**).
- для використання як промивний розчин для мембран вестерн-блоттингу, для фіксованих PFA (параформальдегід) зразків, для імуногістології та для лунок мікротитраційних планшетів для аналізів ELISA (**«Фосфатно-солевий буфер (ФСБ-Т) рН 7,4»**).
- для якісного визначення порфобіліногену (ПБГ) у сечі (**«Порфобіліноген (ПБГ)»**).
- для якісного визначення речовин, реагуючих з п-диметиламінобензальдегідом (**«Реактив Ерліха (альдегідний)»**).
- для якісного визначення індолу и призначені для тестування мікроорганізмів, виділених із клінічного зразка культивуванням, з метою визначення наявності ферментів, що розкладають індол з амінокислоти триптофан (**«Реактив Ковача»**).
- для диференціального забарвлення гінекологічних та негінекологічних препаратів при цитологічній діагностиці та скринінгу за Папаніколау (**«Філо-ПАП-тест»**).
- для швидкої диференціальної оцінки гематологічних, цитологічних, цитобактеріологічних мазків, сперми (**«ЛейкоФарб»**).
- для застосування як забарвлювач - фіксатор формених елементів крові при забарвленні препаратів периферичної крові, кісткового мозку, інших біопрепаратів (**«Забарвлювач за Май-Грюнвальдом»**).
- для застосування набору реагентів - Безводне Монтуюче середовище для мікроскопії (**«ФілоМаунт С»**).

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.