

**УВАГА! ЗМІНА ЧИННИКА ПЕРЕРАХУНКУ!****Інструкція**

**з використання набору реагентів
для визначення загальної активності альфа-амілази
в сироватці, плазмі крові та сечі
Альфа-АМІЛАЗА-кін. Спл**

IN VITRO

Зберігати при 2-8°C

Тільки для професійного використання.

Принцип методу

α-Амілаза розщеплює 2-хлор-4-нітрофеніл-α-D-мальтотріозид, CNPГ₃ до вільних фрагментів 2-хлор-4-нітрофенола (CNP) та форму 2-хлор-4-нітрофеніла-α-D-мальтозида (CNPГ₂), мальтотріози (G₃) і глюкози (G) відповідно до наступної реакції:



Швидкість утворення 2-хлор-4-нітрофенола пропорційна каталітичній активності α-амілази у зразку і вимірюється на фотометрі.

Клінічне значення

α-Амілаза представляє собою фермент, який бере участь в розщепленні глікогену і крохмалю. α-Амілаза утворюється головним чином екзокринно підшлунковою залозою та слинними залозами. Визначення проводиться для діагностики та контролю захворювань підшлункової залози, як гострого так і хронічного панкреатиту. Активність α-амілази також може характеризувати жовчні або шлунково-кишкові захворювання та інші порушення.

Клінічний діагноз не повинен базуватися тільки на одному показникові, необхідно враховувати клінічні та інші лабораторні дані.

Склад набору

1. **Реагент 1.** CNPГ₃ - 2.25 mmol/l (ммоль/л), MES pH 6.2, натрію хлорид - 350 mmol/l (ммоль/л), кальцію ацетат - 6 mmol/l (ммоль/л), калію тіоціонат - 900 mmol/l (ммоль/л), натрію азид - 0.95 g/l (г/л).
2. Інструкція з використання.
3. Паспорт.

Аналітичні характеристики

1. Лінійність вимірювального діапазону: 20 - 2000 U/l (Од/л).
Відхилення від лінійності не перевищує 5 %. Якщо отримані результати були більше, ніж межі лінійності, розведіть зразки 1:1 (в два рази) NaCl 9 g/l (г/л) та помножте результат на 2.
2. Чутливість не менш 20 U/l (Од/л).
3. Коефіцієнт варіації результатів визначень – не більш 5 %.

Матеріал для дослідження

1. Сироватка або плазма крові (рекомендується використовувати гепарин, в якості антикоагулянта). Може пригнічуватись цитратом та ЕДТА. Досліджувані сироватки або плазми повинні бути ретельно відокремлені від формених елементів крові не пізніше, ніж через 1 h (год) після взяття крові. Уникайте використання мутних, ліпідних та гемолітичних зразків.
2. Сечу для зберігання довести до pH 7.0.

Перелік необхідного устаткування

- Спектрофотометричне або колориметричне обладнання з довжиною хвилі 405 nm (нм).
- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 1 cm (см).
- Загальне лабораторне обладнання.

Прим: Адаптації до напівавтоматичних і автоматичних приладів надаються за запитом

Підготовка реагентів

Перед використанням набір витримати при кімнатній температурі протягом 30 min (хв).

P1 готовий до використання.

Проведення аналізу

- Умови вимірювання:
довжина хвилі 405 nm (нм)
кювета з товщиною оптичного шару 1 cm (см)
температура 37°C
- Налаштувати прилад на нуль відносно дистильованої води.
- Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрати та вносити в об'ємах, вказаних в таблиці.

	Сироватка, плазма	Сеча
P1, ml (мл)	1.0	1.0
Зразок, µl (мкл)	20	10

Прим. Об'єми реагенту та зразку можуть бути пропорційно змінені відповідно до робочого об'єму кювети використовуваного аналізатора.

- Перемішати, інкубувати протягом 30 s (с).
- Виміряти первинну оптичну щільність (E) дослідного зразка, включити секундомір і виміряти E з інтервалом в 1 min (хв) протягом 3-х min (хв).
- Підрахуйте різницю між E та середнє значення зміни E за min (хв), $\Delta E / \text{min}$ (хв).

Розрахунок результатів

Сироватка (плазма) $A = \Delta E / \text{min (хв)} \times 3924$

Сеча $A = \Delta E / \text{min (хв)} \times 7926$

де: A – активність в дослідному зразку α -амілази, U/l (Од/л).

ΔE – зміна оптичної щільності дослідного зразка за min (хв)у, одиниць оптичної щільності.

3924, 7926 – теоретичний чинник перерахунку для вираження активності α -амілази в U/l (Од/л).

Референтні величини

Ґрунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Сироватка (плазма) до 90 U/l (Од/л)

Сеча до 450 U/l (Од/л)

Перехід в додаткові одиниці: U/l (Од/л) $\times 0.01667 = \mu\text{kat/l}$ (мккат/л)

Відтворюваність

	Внутрисерійна (n=20)		Міжсерійна (n=20)	
Значення, U/l (Од/л)	77	194	77	197
SD	1,12	2,22	1,08	2,96
CV, %	1,45	1,15	1,39	1,5

Порівняння методів

Точність: результати отримані при використанні реагентів СпайнЛаб (y), при порівнянні з іншими комерційними реагентами (x) систематичних відхилень не виявлено.

Результати

Коефіцієнт кореляції (r^2): 0,98628

Рівняння регресії: $y = 0,746x - 1,2697$

Результати характеристик точності залежать від аналізатору, що використовується.

Специфічність

Гемоліз впливає на результати. Активність амілази зменшується під впливом цитрату та ЕДТА.

Перелік медикаментів та інших речовин, що впливають на визначення амілази наведений у наступних виданнях: 1. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995; 2. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 2001.

Контроль якості

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи наступний контрольний матеріал: «Спл Контроль Норма», «Спл Контроль Патологія» («Лабораторія Гранум», Україна), «ERBA NORM, RATH» (Чехія), «Corma Serum HN, HP» (Польща), «ФИЛО-НОРМ, ФИЛО-ПАТ» (Україна). Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте апаратуру, реактиви та можливі технічні проблеми.

Калібрування приладу проводиться перед використанням нової серії реагентів або у відповідності з вимогами до контролю якості лабораторії. Кожна лабораторія повинна встановити свої власні схеми контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

Примітки

1. Не змішуйте та не використовуйте в одній постановці реагенти різних серій.
2. Активність α -амілази залежить від температури. Якщо проводити дослідження при температурі $<37^{\circ}\text{C}$ або 37°C , то можна буде побачити відповідне підвищення або зниження значень.
3. Слина та піт містять α -амілазу. Уникайте піпетування реагентів ротом і контакту реагенту або використовуваного матеріалу зі шкірою.
4. P1 містить калію тіоціонат. Уникайте вдихання, контакту зі шкірою, очима або слизовою оболонкою. Якщо це сталося, промийте великою кількістю води і проконсультуйтеся з лікарем.

Зберігання та стабільність

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, при зберіганні їх щільно закритими при $2-8^{\circ}\text{C}$. Під час використання реагентів запобігати забруднення та потрапляння прямих сонячних променів.

Не використовуйте реактиви після закінчення терміну придатності 12 mth (міс).

Після відкриття, реагент стабільний протягом 60 d (доб), за умови, що він буде відразу ж закритий після кожного відкриття і буде зберігатися при $2-8^{\circ}\text{C}$.

Вимоги безпеки та утилізації

1. Уникати потрапляння в рот, очі та на шкіру. В разі потрапляння, промити великою кількістю води та звернутися за консультацією до лікаря.
2. Використовувати засоби індивідуального захисту при роботі з набором.
3. Знезараження та утилізація реагентів, сироваток, тестових слайдів чи скляних пластинок проводити згідно з чинним законодавством.

Транспортування

Набори транспортують всіма видами закритого транспорту при температурі до 25°C .

Допускається транспортування при середньодобовій температурі 37°C не більше 72 h (год).

Ознаки погіршення реагентів

- Присутність часток або помутніння.
- ОЩ холостого зразка при 405 nm (нм) ≥ 0.50 .

Комплектація

	Кат. № 1.001	Кат. № 1.002	Кат. № 1.003
Вміст	50 визн.	100 визн.	500 визн.
P1	1 x 50 ml (мл)	1 x 100 ml (мл)	1 x 500 ml (мл)



ТОВ «Лабораторія Гранум», Україна, 61001, м. Харків, вул. Франківська, 14.

Тел./факс: (057) 752-32-31, e-mail: granumlab@gmail.com

Символи на продукції



Виробник Виготовлено: Дата виробництва Придатно до: Термін придатності Серія: Номер серії



Виріб медичний для діагностики in vitro



Консультуйтеся з інструкцією із використання



Берегти від сонячного світла



Знак відповідності Технічним регламентам



Температурне обмеження



Засторога. Зверніться до інструкції з використання для отримання інформації щодо застережень, попереджень, запобіжних заходів