

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 2009 г. № _____ -Пр/09



УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор Управляющей компании

ООО «Юнимед-менеджмент»

А.Н.Шибанов

2009г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагента для определения активности альфа-амилазы в сыворотке или плазме крови и моче человека кинетическим методом «а-АМИЛАЗА-UTS»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

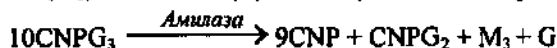
1.1. Набор предназначен для количественного определения активности а-амилазы в сыворотке или плазме крови и моче человека кинетическим методом в клинико-диагностических лабораториях и научно-исследовательской практике.

1.2. Набор выпускается в двух видах фасовки и рассчитан, соответственно, на проведение 100 или 200 определений при расходе 1,0 мл реагента на один анализ.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Альфа-амилаза катализирует реакцию гидролиза субстрата 2-хлор-4-нитрофенил-α-D-мальтотриозида (CNP_G) с образованием следующих соединений: 2-хлор-4-нитрофенола (CNP), 2-хлор-4-нитрофенил-α-D-мальтозида (CNP_G2), мальтотриозы (M₃) и глюкозы (G) по следующей схеме реакции:



Скорость образования 2-хлор-4-нитрофенола пропорциональна активности фермента и определяется фотометрическим методом при длине волны 405 нм.

2.2. Клиническая диагностика

Альфа-амилаза — фермент, участвующий в расщеплении крахмала, гликогена и некоторых других углеводов. Образуется в слюнных железах, поджелудочной железе и поступает, соответственно, в ротовую полость и двенадцатиперстную кишку, обеспечивая переваривание углеводов пищи.

Этот анализ назначается, в первую очередь, при заболеваниях поджелудочной железы. При ее воспалении (панкреатит), травме, препятствиях оттоку панкреатического сока (камни, сужение протоков) активность амилазы в крови может увеличиваться в 2 и более раза.

При атрофии поджелудочной железы или замещении ее клеток соединительной тканью (фиброз) образование амилазы уменьшается и ее активность в крови снижается ниже нормы.

Клинический диагноз не может быть поставлен по результатам одного анализа, он должен объединять как клинические, так и лабораторные данные.

2.3. Состав набора

Наименование	Концентрация
Реагент:	
Буферный раствор MES pH 6,0	100 ммоль/л
CNP _G	2,25 ммоль/л
NaCl	350 ммоль/л
Ацетат кальция	6,0 ммоль/л
Тиоцианат-калия	900 ммоль/л
Азид натрия	0,95 г/л

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Набор обеспечивает линейную область определения активности альфа-амилазы в диапазоне от 5,0 Е/л до 2000 Е/л, отклонение от линейности не превышает 5%. Чувствительность — не более 4,0 Е/л, коэффициент вариации результатов определений — не более 5%.

3.2. Качество набора можно оценивать по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

3.3. Нормальные величины активности альфа-амилазы составляют:

в сыворотке или плазме крови человека 23-100 Е/л;

в моче 10-490 Е/л.

3.4. Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон значений нормальных величин для обследуемого контингента людей.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- 4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а.
- 4.2. Реагент содержит 2-хлор-4-нитрофенил- α -D-мальтотриозид и азид натрия. Следует избегать попадания реагента на кожу и слизистые. В случае попадания их на кожу и слизистые оболочки необходимо промыть пораженные участки большим количеством проточной воды.
- 4.3. При работе с набором необходимо соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противозидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).
- 4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

- Спектрофотометр, программируемый фотометр или анализатор, длина волны 405 нм, термостатируемая при $+37^{\circ}\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ кювета с длиной оптического пути 10 мм*;
- термостат, обеспечивающий температуру $+37^{\circ}\pm 0,5^{\circ}\text{C}$;
- таймер;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 10, 20 и 1000 мкл;
- дистиллированная или деионизованная вода;
- 0,9% раствор NaCl (физиологический раствор).

*Внимание: при использовании кювет с длиной оптического пути, отличной от 10 мм, требуется перерасчет фактора набора. При использовании биохимического анализатора с ненормированной длиной оптического пути требуется калибровка по сывороточным калибраторам, аттестованным по значению активности альфа-амилазы.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

- 6.1. Негемолизированная сывортка или плазма крови. Сывортку или плазму крови следует отделить от форменных элементов крови не позднее, чем за 1 час после забора крови. Рекомендуется использовать гепарин в качестве антикоагулянта.
- 6.2. Моча: перед хранением образцов pH следует довести до значения, равного 7,0.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

- 7.1. Реагент перед применением необходимо прогреть до температуры 37°C .
- 7.2. Компоненты реакционной смеси отбирать в количествах, указанных в таблице:

Объем, мкл	Сыворотка или плазма	Моча
Реагент	1000	1000
Анализируемый образец	20	10

Примечание. При использовании автоматических или полуавтоматических биохимических анализаторов количество реагентов и анализируемых образцов в зависимости от объема используемой кюветы может быть пропорционально изменено (соотношение сывортки или плазмы крови к реагенту составляет 1:50, мочи к реагенту – 1:100).

- 7.3. Пробы перемешать и инкубировать в течение 30 секунд при $+37^{\circ}\text{C}$.

8. ПРОВЕДЕНИЕ ИЗМЕРЕНИЙ

- 8.1. Измерить оптическую плотность анализируемого образца (D_0) при температуре $+37^{\circ}\text{C}$, при длине волны 405 нм против дистиллированной воды.
- 8.2. Включить таймер и через 1 минуту (точно!) аналогично измерить оптическую плотность анализируемого образца (D_1).
- 8.3. Провести повторные измерения оптических плотностей (D_2 и D_3) через 2 и 3 мин после включения таймера.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

- 9.1. Рассчитать по измеренным величинам среднее изменение оптической плотности пробы в минуту:

$$\Delta D = [(D_1 - D_0) + (D_2 - D_1) + (D_3 - D_2)] / 3$$

- 9.2. Активность альфа-амилазы в сывортке или плазме крови (в Е/л) определить по формуле:

$$A = 3954 \times \Delta D,$$

где:

- A – активность альфа-амилазы, Е/л;
- ΔD – среднее изменение оптической плотности анализируемого образца за одну минуту, ед.опт.пл.;
- 3954 – фактор пересчета для выражения активности альфа-амилазы в Е/л.

9.3. Активность альфа-амилазы в моче в (Е/л) определить по формуле:

$$A = 7908 \times \Delta D,$$

где: A – активность альфа-амилазы, Е/л;

- ΔD – среднее изменение оптической плотности пробы за одну минуту, ед.опт.пл.;
- 7908 – фактор пересчета для выражения активности альфа-амилазы в Е/л.

9.3. При значении ΔD , превышающем 0,5 ед.опт.пл./мин, анализируемый образец следует развести физиологическим раствором в 2 раза, провести повторные измерения и полученный результат определения умножить на 2.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор реагентов « α -АМИЛАЗА-UTS» должен храниться в темном месте, при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.2. Срок годности набора – 12 месяцев.

10.3. Реагент после вскрытия флакона может храниться при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в плотно закрытом флаконе в темном месте в течение 60 суток.

10.4. При загрязнении реагента, его помутнении или при оптической плотности при 405 нм $\geq 0,50$ ед. (при использовании кювет с длиной оптического пути 10 мм) реагент не годен к употреблению.

10.5. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

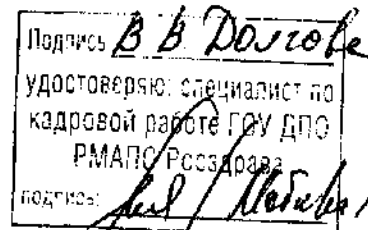
Руководитель отдела производства реагентов

ООО «ЭЙЛИТОН» В.Н. Нечаев В.Н.



н., профессор Долгов В.В.

200 г



11.03.09

По вопросам, касающимся качества набора « α -АМИЛАЗА-UTS» следует обращаться в ЗАО «А/О Юнимед» по адресу: 129301, Москва, ул. Касаткина, 3а; Тел. (495) 734-91-31, 8-800-333-91-31.

Факс: (495) 564-86-41.

E-mail: office@unimeda.ru

http://www.unimeda.ru

