

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

Е.Н.Схолль-Энгбертс

2017г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения
активности α -амилазы в сыворотке (плазме) крови и моче
амилокластическим методом

« α -АМИЛАЗА – ВИТАЛ»

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для определения активности α -амилазы в сыворотке (плазме) крови и моче амилокластическим методом « α -АМИЛАЗА-ВИТАЛ» предназначен для количественного определения активности α -амилазы в сыворотке (плазме) крови и моче в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 200 определений при расходе 0,5 мл рабочего раствора субстрата на один анализ.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Под действием α -амилазы крахмал гидролизуетсся с образованием продуктов, не дающих цветной реакции с йодом. Интенсивность уменьшения окраски йод-крахмального комплекса в единицу времени пропорциональна активности фермента и измеряется фотометрически при длине волны 670 (630-690) нм.

СОСТАВ НАБОРА

В состав набора входят:

- реагент 1: фосфатный буфер, 20 ммоль/л, рН 6,9, содержащий натрий хлористый, 50 ммоль/л – 1 флакон (105 мл);
- реагент 2: концентрированный субстрат, содержащий крахмал, 10 г/л, с добавлением натрия гидроксида, 100 ммоль/л – 1 флакон (5 мл);
- реагент 3: концентрированный раствор йода, содержащий йод, 12,7 г/л и калий йодистый, 30 г/л – 1 флакон (7 мл);
- реагент 4: раствор фторида калия, 250 г/л – 1 флакон (13 мл);
- реагент 5: соляная кислота, концентрат, 1,6 моль/л – 1 флакон (50 мл).

Набор реагентов « α -АМИЛАЗА-ВИТАЛ» может быть использован на полуавтоматических биохимических анализаторах и на спектрофотометрах, имеющих возможность проведения измерения на длине волны 630-690 нм, с длиной оптического пути 5-10 мм, с термостатируемым реакционным блоком (температура инкубации +37°C), с возможностью инкубации пробы не менее 5 минут.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейная область определения активности α -амилазы в диапазоне от 2,0 до 44 мг/(с×л), отклонение от «линейности» не превышает 8 %.

Чувствительность – не более 1,7 мг/(с×л).

Коэффициент вариации результатов определений – не более 8 %.

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

Нормальные величины активности α -амилазы в сыворотке (плазме) крови – 3,3-8,9 мг/(с×л), в моче – до 44 мг/(с×л), при 37 °С.

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

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Свежая негемолизированная сыворотка или гепаринизированная плазма крови, моча. Сыворотку (плазму) крови следует отделить от форменных элементов не позднее, чем через 1 час после забора крови. Мочу перед определением следует развести физиологическим раствором в 10 раз.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Реагент 2 содержит гидроксид натрия, реагент 5 – соляную кислоту. При работе с ними следует соблюдать осторожность и не допускать попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

Реагент 3 содержит вредное вещество (йод), токсичное для водной флоры и фауны. При работе с ним следует соблюдать осторожность, не вдыхать пары и не допускать попадания в глаза, желудок, на кожу. При попадании в глаза или на кожу немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды; при вдыхании вывести пострадавшего на свежий воздух; при проглатывании выпить несколько порций молока через каждые 15 мин, избегать рвоты; обратиться к врачу.

Меры предосторожности - соблюдение «Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

При работе с набором следует соблюдать требования ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности» и СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

При работе с сывороткой или плазмой крови следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять или передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Согласно классификации по СанПиН 2.1.7.2790-10 компоненты набора могут быть отнесены к классу «Г». Утилизацию использованных реагентов и реагентов с истекшим сроком годности производить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 в отношении отходов класса «Г». Дезинфекцию следует проводить в соответствии с МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

Не допускается использование серии набора по истечении срока ее годности.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- Спектрофотометр, фотоэлектроколориметр или программируемый фотометр, длина волны 670 (630-690) нм, кювета с длиной оптического пути 10 мм;
- термостат, обеспечивающий температуру $+37 \pm 0,5^\circ\text{C}$;
- секундомер;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменяемыми наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,01, 0,3, 0,5 и 4,0 мл;
- пробирки стеклянные вместимостью 7,0-10,0 мл;
- колба коническая вместимостью 50 мл;

- 0,9 % раствор NaCl (физиологический раствор);
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или латексные.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧИХ РАСТВОРОВ

1. Приготовление рабочего раствора субстрата: смешать необходимое количество реагента 1 и реагента 2 в соотношении 24:1 (например, 4,8 мл реагента 1+0,2 мл реагента 2) и перемешать. Тщательно закрыть флаконы с реагентами 1 и 2 непосредственно после каждого использования. Рабочий раствор субстрата можно хранить не менее 5 дней при температуре 2-8 °С в плотно закрытом флаконе.

2. Приготовление рабочего раствора йода: в пенициллиновый флакон внести компоненты в следующей последовательности (последовательность не нарушать!): дистиллированная вода – 7 мл, реагент 4 – 2,0 мл, реагент 3 – 1,0 мл и перемешать. Тщательно закрыть флаконы с реагентами 3 и 4 непосредственно после каждого использования.

Рабочий раствор йода можно хранить в течение 1 месяца при комнатной температуре (+18-25°C) в темном месте в плотно закрытом флаконе.

3. Приготовление рабочего раствора соляной кислоты: необходимое количество реагента 5 развести в 16 раз дистиллированной водой (1 часть реагента 5+15 частей воды) и перемешать. Тщательно закрыть флакон с реагентом 5 непосредственно после каждого использования.

Рабочий раствор соляной кислоты можно хранить в течение 3 месяцев при комнатной температуре (+18-25°C) в плотно закрытом флаконе.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Перед проведением анализа рабочий раствор субстрата нагреть до температуры +37 °С.

Внести в пробирки реагенты и анализируемые пробы в количествах, указанных в таблице 1.

Таблица 1

Отмерить, мл	Опытная проба	Холостая проба
Рабочий раствор субстрата (+37°C)	0,50	0,50
Сыворотка (плазма) крови или моча	0,01	-

Пробы тщательно перемешать и инкубировать при температуре +37°C в течение 5 мин (точно!). После окончания инкубации во все пробирки добавить рабочие растворы в количествах, указанных в таблице 2, а в каждую пробирку для холостой пробы добавить также по 0,01 мл соответствующего анализируемого образца сыворотки (плазмы) крови или мочи.

Таблица 2

Отмерить, мл	Опытная проба	Холостая проба
Рабочий раствор соляной кислоты	4,0	4,0
Рабочий раствор йода	0,3	0,3
Сыворотка (плазма) крови или моча	-	0,01

Примечание. Вносить компоненты следует в указанном порядке.

Пробы закрыть крышками, быстро охладить под струей холодной водопроводной воды, тщательно перемешать и измерить оптическую плотность опытных проб и холостых проб против дистиллированной воды при длине волны (630-690) нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм.

Окраска проб стабильна не более 10 мин после окончания инкубации.

РАСЧЕТЫ

Расчет активности фермента (А) в сыворотке (плазме) производят по формуле (1):

$$A = [(E_{\text{хол}} - E_{\text{оп}})/E_{\text{хол}}] \times 66,6 \quad (1),$$

где: А – активность α-амилазы в мг/(с × л);

$E_{\text{оп}}$ - оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. плотн.

$E_{\text{хол}}$ - оптическая плотность холостой пробы, ед. опт. плотн;

66,6 – коэффициент пересчета для выражения активности α-амилазы в мг/(с × л), рассчитанный с учетом количества крахмала (в мг), введенного в опытную и холостую пробы, времени инкубации (в секундах), в пересчете на 1 л биологической жидкости.

Расчет активности фермента (А) в моче производят по формуле (2):

$$A = [(E_{\text{хол}} - E_{\text{оп}})/E_{\text{хол}}] \times 66,6 \times 10 \quad (2),$$

где: А – активность α-амилазы, мг/(с × л);

$E_{\text{оп}}$ - оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. плотн.

$E_{\text{хол}}$ - оптическая плотность холостой пробы, ед. опт. плотн;

66,6 – коэффициент пересчета для выражения активности α-амилазы в мг/(с × л);

10 - фактор разведения мочи.

Примечание. Активность фермента измеряется количеством крахмала (мг), гидролизованного 1 л биологической жидкости за 1 секунду инкубации при 37°C.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор реагентов для определения активности α-амилазы в сыворотке (плазме) крови и моче амилаклатическим методом «α-АМИЛАЗА-ВИТАЛ» должен храниться в темном месте при температуре +2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается хранение наборов при температуре до +25°C не более 30 суток.

Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре +2-8 °C. Допускается транспортирование наборов при температуре до +25 °C не более 30 сут.

Замораживание компонентов набора не допускается.

Габаритные размеры набора - 178×100×52 мм, вес нетто – 305 гр, вес брутто – 355 гр.

Срок годности набора – 18 месяцев.

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов можно хранить при температуре +2-8°C в течение всего срока годности набора, при условии достаточной герметизации флаконов.

Реагенты 3, 4 и 5 после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытой посуде при комнатной температуре (+18-25°C) в течение всего срока годности набора, причем реагент 3 – в темном месте. Появление небольшого количества кристаллического осадка в реагенте 3 не влияет на правильность анализа.

Рабочий раствор субстрата можно хранить не менее 5 дней при температуре +2-8 °C в плотно закрытом флаконе.

Рабочий раствор йода можно хранить в течение 1 месяца при комнатной температуре в темном месте в плотно закрытом флаконе.

Рабочий раствор соляной кислоты можно хранить в течение 3 месяцев при комнатной температуре в плотно закрытом флаконе.

В том случае, когда активность α -амилазы превышает 44 мг/(с×л), анализируемый образец следует развести физиологическим раствором в 4 раза, повторить анализ и полученный результат умножить на 4.

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

По вопросам, касающимся качества набора « α -АМИЛАЗА-ВИТАЛ», следует обращаться в АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» по адресу:

194 356, Санкт-Петербург, Дорога в Каменку, д. 56, лит. А.

Тел/факс: (812) 326-61-98.

и в испытательную лабораторию ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» по адресу:

125 367, Москва, Полесский проезд, д. 2, корп.1, пом. 3.

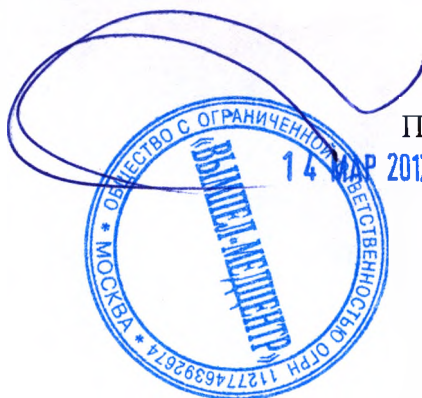
Тел/факс: (495) 942-53-39.

Генеральный директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»



Е.Н. Схолль-Энгбертс

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



П.К.Варнавичус

Прошито, пронумеровано,
и скреплено печатью

Всего 5 листа(ов)

Ген. директор Сколь-Энгбертс Е.Н.



ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 5 ЛИСТОВ

« 14 МАР 2017 201 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.

