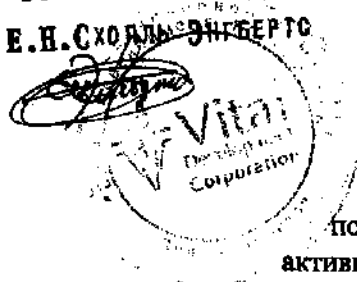


УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора
от _____ 2011 г. № _____

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

КОПИЯ ВЕРНА
ГЕН. ДИРЕКТОР
Е.Н.СХОЛЛЬ-ЭНГБЕРГ



Е.Н.Схолль-Энгбертс

2011 г.

ИНСТРУКЦИЯ

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

(альфа-Амилаза-Витал)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор альфа-Амилаза-Витал предназначен для количественного определения активности α -амилазы в сыворотке (плазме) крови и моче энзиматическим кинетическим методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор выпускается в двух видах фасовки и рассчитан, соответственно, на проведение 120 или 240 определений при расходе 0,5 мл рабочего реагента на один анализ.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Под действием α -амилазы синтетический субстрат EPS [4,6-этилиден(G_7)-п-нитрофенил(G_1)- α ,D-мальтогептаозид] гидролизуетс~~я~~ с образованием неокрашенных нитрофенилмальтозидов. Под действием α -глюкозидазы нитрофенилмальтозиды гидролизуются до глюкозы и окрашенного п-нитрофенола, скорость нарастания концентрации которого пропорциональна активности α -амилазы и измеряется фотометрически при длине волны 405 нм.

СОСТАВ НАБОРА

В состав набора входят:

- реагент 1: буферный раствор, рН 7,1, содержащий HEPES, 100 ммоль/л; натрий хлористый, 50 ммоль/л; магний хлористый, 10 ммоль/л; α -глюкозидазу, 2500 Е/л – 1 флакон (48 мл), 2 флакона (по 48 мл), или 1 флакон (96 мл)
- реагент 2: субстрат, содержащий EPS, 5 ммоль/л – 1 флакон (12 мл), 2 флакона (по 12 мл), или 1 флакон (24 мл).

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Набор обеспечивает линейную область определения активности α -амилазы в диапазоне от 50 до 1320 Е/л, отклонение от «линейности» не превышает 5 %. Чувствительность – не более 40 Е/л, коэффициент вариации результатов определений – не более 5 %.

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

Нормальные величины активности α -амилазы в сыворотке (плазме) крови – до 110 Е/л, в моче – до 900 Е/сут.

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

ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка (плазма) крови и моча. Сыворотку (плазму) крови следует отделить от форменных элементов не позднее, чем через 1 час после забора крови.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Следует избегать контакта реагентов с кожей и слюной, которые содержат α -амилазу, что может исказить результаты определений. В связи с этим необходимо для отбора реагентов и анализируемых проб использовать полуавтоматические пипетки.

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

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- Спектрофотометр, длина волны 405 нм, термостатируемая кювета с длиной оптического пути 10 мм, программируемый фотометр или биохимический анализатор открытого типа;
- термостат, обеспечивающий температуру $+37 \pm 0,5^\circ\text{C}$;
- секундомер;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменяемыми наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 10, 20 и 500 мкл;
- колба коническая вместимостью 100 мл;
- 0,9 % раствор NaCl (физиологический раствор);
- вода дистиллированная.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО РЕАГЕНТА

Смешать в колбе конической вместимостью 100 мл необходимое количество реагента 1 и реагента 2 в соотношении 4:1. Тщательно закрыть флаконы с реагентами 1 и 2 непосредственно после каждого использования.

Рабочий реагент можно хранить при температуре $+2-8^\circ\text{C}$ не более 10 дней или при комнатной температуре ($+18-25^\circ\text{C}$) не более 6 часов.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Перед проведением анализа рабочий реагент следует нагреть до температуры $+37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ в течение 5 минут. При проведении анализа постоянно поддерживать температуру рабочего раствора и в кювете спектрофотометра $+37^\circ\text{C}$.

Компоненты реакционной смеси отобрать в количествах, указанных в таблице.

Таблица

Отмерить, мкл	Опытная проба
Сыворотка (плазма) крови	20
Моча	10
Рабочий реагент	500

Примечание. При использовании полуавтоматических или автоматических биохимических анализаторов открытого типа количество реагентов и анализируемых образцов в зависимости от объема используемой кюветы может быть пропорционально изменено (соотношение сыворотки или плазмы крови к рабочему реагенту составляет 1:25, мочи – 1:50).

Пробы тщательно перемешать и инкубировать в кювете спектрофотометра с длиной оптического пути 10 мм при температуре $+37^\circ\text{C}$ в течение 2 минут. Измерить оптическую плотность опытной пробы при температуре $+37^\circ\text{C}$ против рабочего реагента или дистиллированной воды при длине волны 405 нм. Измерение оптической плотности повторить три раза с интервалом в одну минуту (точно!).

РАСЧЕТЫ

Изменение оптической плотности анализируемой пробы за 1 минуту ($\Delta E/\text{мин}$) определить по формуле:

$$\Delta E/\text{мин} = \frac{\Delta E_k}{t},$$

где: ΔE_k – изменение оптической плотности пробы, ед.опт.плотн.;
t – интервал времени между определениями, мин.

Активность α -амилазы в сыворотке и плазме крови определяется по формуле:

$$A = \Delta E /_{\text{мин}} \times F_1,$$

где: A – активность α -амилазы, Е/л;

$\Delta E /_{\text{мин}}$ – изменение оптической плотности пробы за одну минуту, ед.опт. плотн.;

F_1 – фактор пересчета для выражения активности α -амилазы в Е/л (указывается в паспорте на набор).

Примечание. 1Е/л=16,67 нмоль/(схл).

Активность α -амилазы в моче определить по формуле:

$$A = \Delta E /_{\text{мин}} \times F_2 \times K,$$

где: A – активность α -амилазы, Е/сут;

$\Delta E /_{\text{мин}}$ – изменение оптической плотности пробы за одну минуту, ед.опт. плотн.;

F_2 – фактор пересчета для выражения активности α -амилазы в Е/сут (указывается в паспорте на набор);

K – количество суточной мочи, мл.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Хранение наборов должно производиться 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 2 суток. Замораживание компонентов набора не допускается.

Срок годности набора – 18 месяцев.

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов можно хранить при температуре +2-8°C не более 90 дней при условии достаточной герметизации флаконов.

Рабочий реагент можно хранить при температуре +2-8°C не более 10 суток или при комнатной температуре (+18-25°C) не более 6 часов.

В том случае, когда величина $\Delta E /_{\text{мин}}$ превышает 0,20, анализируемый образец следует развести физиологическим раствором в 10 раз и полученный результат умножить на 10.

Набор позволяет провести определение активности α -амилазы в сыворотке (плазме) крови и моче также при температуре инкубации +25°C или +30°C; ход проведения анализа при этом такой же, как и при температуре +37°C, равно как и необходимость постоянного термостатирования при выбранной температуре при измерении оптической плотности проб.

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

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» по адресу:

194 156, Санкт-Петербург, пр. Энгельса, д. 27.

Телефон / факс: (812) 326-61-98.

и на кафедру КЛД ГОУ ДПО «РМАПО Росздрава» по адресу:

116 000, Москва, 2-й Боткинский пр, д. 5.

Тел.: (495) 945-82-22.

Генеральный директор
ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

Е.Н. Схолль-Энгбертс

Зав. кафедрой клинической лабораторной
диагностики с курсом молекулярной медицины,
директор НЦ «Институт лабораторной медицины»
ГОУ ВПО СПбГМУ им. акад. И.П.Павлова Росздрава,
Главный специалист-эксперт
по клин. лаб. диагностике Росздравнадзора
по С-ЗФО, д. м. н., профессор

