

ИНСТРУКЦИЯ

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

(α -АМИЛАЗА - ВИТАЛ)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для определения активности α -амилазы в сыворотке (плазме) крови и моче энзиматическим колориметрическим методом "по конечной точке" (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 140 определений при расходе 0,25 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, интенсивность окраски после окончания инкубации пропорциональна активности α -амилазы и измеряется фотометрически при длине волны 405 нм.

СОСТАВ НАБОРА

В состав набора входят:

- реагент 1: буферный раствор (HEPES, 100 ммоль/л, pH 7,1), содержащий натрий хлористый, 50 ммоль/л; магний хлористый, 10 ммоль/л; α -глюкозидазу, 2500 Е/л – 1 флакон (28 мл);
- реагент 2: субстрат, содержащий EPS, 5 ммоль/л – 1 флакон (7 мл);
- реагент 3: стоп-реагент, содержащий гуанидин солянокислый, 2,25 моль/л – 1 флакон (250 мл).

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Линейная область определения активности α -амилазы в диапазоне от 40 до 900 Е/л, отклонение от «линейности» не превышает 5 %.

Чувствительность – не более 30 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 500 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.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

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.

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 405 нм, кювета с длиной оптического пути 5 мм или 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, 0,25 и 1,75 мл;
- пробирки стеклянные вместимостью 3,0-5,0 мл;
- колба коническая вместимостью 50 мл;
- 0,9 % раствор NaCl (физиологический раствор);
- вода дистиллированная.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО РЕАГЕНТА

Смешать в колбе конической вместимостью 50 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 °С. Внести в пробирки реагенты и анализируемые пробы в количествах, указанных в таблице 1.

Таблица 1

Отмерить, мл	Опытная проба	Холостая проба по образцу	Контрольная (холостая) проба
Рабочий реагент (+37°С)	0,25	0,25	0,25
Сыворотка (плазма) крови	0,01	-	-
Моча	0,005	-	-
Вода дистиллированная	-	-	0,01 (0,005)

Пробы тщательно перемешать и инкубировать при температуре +37°С в течение 30 мин (точно!). Соотношение сыворотки или плазмы крови к рабочему реагенту составляет 1:25, мочи – 1:50, поэтому объем дистиллированной воды, добавляемой к контрольной (холостой) пробе, зависит от материала образцов, анализируемых в определенной аналитической серии.

После окончания инкубации во все пробирки добавить по 1,75 мл реагента 3, а в каждую пробирку для холостой пробы по образцу добавить также по 0,01 мл соответствующего анализируемого образца сыворотки (плазмы) крови или по 0,005 мл образца мочи, как указано в таблице 2.

Таблица 2

Отмерить, мл	Опытная проба	Холостая проба по образцу	Контрольная (холостая) проба
Реагент 3 (Стоп-реагент)	1,75	1,75	1,75
Сыворотка (плазма) крови	-	0,01	-
Моча	-	0,005	-

Пробы закрыть, тщательно перемешать и измерить оптическую плотность опытных проб и холостых проб по образцу против контрольной (холостой) пробы при длине волны 405 нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм (5 мм).

Окраска проб стабильна не менее 1 ч после окончания инкубации при условии предохранения от прямого воздействия солнечных лучей.

РАСЧЕТЫ

Определить разность (ΔE) между значениями оптических плотностей проб опытных проб и оптических плотностей холостых проб по формуле:

$$\Delta E = E_{\text{оп}} - E_{\text{хол}}$$

где: $E_{\text{оп}}$ – значение оптической плотности опытной пробы, ед.опт.плотн.;

$E_{\text{хол}}$ – значение оптической плотности холостой пробы, ед.опт.плотн.

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

$$A = \Delta E \times F_1,$$

где: A – активность α -амилазы, Е/л;

ΔE – разность между значениями оптической плотности опытной пробы и оптической плотности холостой пробы, ед.опт. плотн.;

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

Активность α -амилазы в моче определить по формуле:

$$A = \Delta E \times F_2 \times K,$$

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

ΔE – разность между значениями оптической плотности опытной пробы и оптической плотности холостой пробы, ед.опт. плотн.;

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

K – количество суточной мочи, л.

Примечание. 1 Е/л=16,67 нмоль/(схл).

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор реагентов для определения активности α -амилазы в сыворотке (плазме) крови и моче энзиматическим колориметрическим методом "по конечной точке" (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 5 суток.

Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре 2-8 °С. Допускается транспортирование наборов при температуре до 25 °С не более 5 сут.

Замораживание компонентов набора не допускается.

Габаритные размеры набора - 178×100×52 мм, вес нетто – 360 гр., вес брутто – 410 гр.

Срок годности набора – 12 месяцев.

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

Реагент 3 после вскрытия флакона можно хранить в плотно закрытой посуде при температуре 18-25°C в течение всего срока годности набора.

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 активность α -амилазы превышает 900 Е/л, анализируемый образец следует развести физиологическим раствором в 10 раз, провести анализ и полученный результат умножить на 10.

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, корп. 38, лит. К, пом. 18,19.

Тел/факс: (812) 326-61-98.

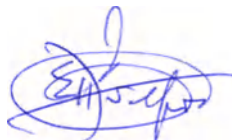
и в испытательную лабораторию ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» по адресу:

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

Тел/факс: (495) 942-53-39.

Генеральный директор

ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»



Е.Н. Схолль-Энгбертс

Научный руководитель испытательной лаборатории

ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

д.м.н., профессор



24 ФЕВ 2016

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 7 ЛИСТОВ
« 24 ФЕВ 2016 201__ год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ – МЕДЦЕНТР»

П.К. Варнавичус

