

«УТВЕРЖДАЮ»

**Генеральный директор
Акционерного общества
«ДИАКОН-ДС»**



Николаев В.В.

2019 г.

ИНСТРУКЦИЯ по применению

**Набор реагентов для определения общей активности α -амилазы
кинетическим методом в сыворотке, плазме крови и моче
(α -АМИЛАЗА ДДС)**

РУ № ФСР 2007/00267

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для определения общей активности α -амилазы (поджелудочный и слюнной изоферменты) в сыворотке, плазме крови и моче человека кинетическим методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор реагентов (α -АМИЛАЗА ДДС) должен использоваться квалифицированным персоналом в области клинической лабораторной диагностики.

Количество определений зависит от объема фасовки и используемого биохимического анализатора.

СПРАВОЧНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

α -амилазы – это гидролитические ферменты, разлагающие крахмал до мальтозы. В организме человека α -амилазы имеют различное происхождение: панкреатическая амилаза производится поджелудочной железой и выходит в Кишечный тракт, слюнная амилаза синтезируется в слюнных железах и секретируется в слюну. Присутствующая в крови амилаза выходит через почки и экскретируется в мочу. Следовательно, увеличение сывороточной активности отражается в повышении мочевой амилазной активности.

В основном, измерение α -амилазы в сыворотке и в моче используется для диагностики нарушений работы поджелудочной железы и для обнаружения развития осложнений. При острых панкреатитах активность амилазы крови повышается в течение нескольких часов после начала болей в животе, примерно через 12 ч достигает пика и возвращается к нормальным значениям по прошествии 5 дней. Специфичность α -амилазы для болезней поджелудочной железы не очень высока, поскольку повышенные уровни также наблюдаются при различных болезнях, не связанных с поджелудочной железой, например, паротите и почечной

достаточности. Поэтому для подтверждения острого панкреатита необходимо дополнительно проводить измерение активности липазы.

МЕТОД

Ферментативный фотометрический тест (субстрат EPS-G7).

ПРИНЦИП МЕТОДА

α -Амилаза катализирует реакцию гидролиза субстрата 4,6-этилиден-глюкоза-п-нитрофенил-глюкоза- α -D-мальтогептазида (EPS-G7) с образованием п-нитрофенилолигомальтозидов, которые с участием α -глюкозидазы расщепляются до глюкозы и п-нитрофенола. Скорость образования п-нитрофенола прямо пропорциональна активности α -амилазы в пробе и измеряется фотометрически при длине волны 405 нм.

СОСТАВ НАБОРА

Варианты исполнения:

1. Вариант 1:

1.1. Реагент 1: буферно-ферментный раствор, pH 7,15;

1.2. Реагент 2: буферно-субстратный раствор, pH 7,15.

в следующих комплектациях:

- 1) Реагент 1: 2 флакона (по 20 мл);
Реагент 2: 1 флакон (10 мл).
- 2) Реагент 1: 5 флаконов (по 20 мл);
Реагент 2: 1 флакон (25 мл).
- 3) Реагент 1: 2 флакона (по 68 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 17 мл).
- 4) Реагент 1: 6 флаконов (по 68 мл);
Реагент 2: 6 флаконов (по 17 мл).
- 5) Реагент 1: 2 флакона (по 64 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 20 мл).
- 6) Реагент 1: 6 флаконов (по 64 мл);
Реагент 2: 6 флаконов (по 20 мл).
- 7) Реагент 1: 2 флакона (по 65 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 20 мл).
- 8) Реагент 1: 6 флаконов (по 65 мл);
Реагент 2: 6 флаконов (по 20 мл).
- 9) Реагент 1: 4 флакона (по 65 мл);
Реагент 2: 4 флакона (по 20 мл).
- 10) Реагент 1: 4 флакона (по 38 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 22 мл).
- 11) Реагент 1: 6 флаконов (по 24 мл);
Реагент 2: 3 флакона (по 13 мл).
- 12) Реагент 1: 6 флаконов (по 16 мл);
Реагент 2: 6 флаконов (по 4,0 мл).
- 13) Реагент 1: 5 флакона (по 62 мл);
Реагент 2: 5 флаконов (по 18 мл).
- 14) Реагент 1: 4 флакона (по 20 мл);
Реагент 2: 4 флакона (по 5,0 мл).
- 15) Реагент 1: 1 флакон (40 мл);
Реагент 2: 1 флакон (10 мл).
- 16) Реагент 1: 2 флакона (по 40 мл);
Реагент 2: 1 флакон (20 мл).

- 17) Реагент 1: 4 флакона (по 20 мл);
Реагент 2: 1 флакон (20 мл).
- 18) Реагент 1: 4 флакона (по 60 мл);
Реагент 2: 1 флакон (60 мл).
- 19) Реагент 1: 4 флакона (по 35 мл);
Реагент 2: 4 флакона (по 11 мл).
- 20) Реагент 1: 4 флакона (по 44 мл);
Реагент 2: 4 флакона (по 11 мл).
- 21) Реагент 1: 4 флакона (по 15 мл);
Реагент 2: 1 флакон (15 мл).
- 22) Реагент 1: 6 флаконов (по 33 мл);
Реагент 2: 6 флаконов (по 12 мл).
- 23) Реагент 1: 1 канистра (10000 мл);
Реагент 2: 1 канистра (2500 мл).
- 24) Реагент 1: 4 флакона (по 17 мл);
Реагент 2: 1 флакон (18 мл).
- 25) Реагент 1: 4 флакона (по 31 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 16 мл).

2. Вариант 2:

- 2.1. Реагент 1: буферно-ферментный раствор, pH 7,15;
- 2.2. Реагент 2: буферно-субстратный раствор, pH 7,15;
- 2.3. Идентификационная метка.

в следующих комплектациях:

- 1) Реагент 1: 2 флакона (по 20 мл);
Реагент 2: 1 флакон (10 мл);
Идентификационная метка – 1 шт.
- 2) Реагент 1: 5 флаконов (по 20 мл);
Реагент 2: 1 флакон (25 мл);
Идентификационная метка – 1 шт.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- Линейность в диапазоне от 5,0 до 2000 Е/л.
- Отклонение от линейности не превышает 5%.
- Чувствительность – не более 5,0 Е/л.
- Коэффициент вариации – не более 5%.

При активности α -амилазы в образце более 2000 Е/л (изменение оптической плотности пробы в минуту $\Delta A/\text{мин}$ не должно превышать 0,35) анализируемую пробу следует развести в 10 раз физиологическим раствором (0,9% NaCl), повторить анализ и полученный результат умножить на 10.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для калибровки автоматических фотометрических систем и уточнения фактора пересчета для полуавтоматических биохимических анализаторов рекомендуем использовать мультикалибратор TruCal U производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия).

Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов проводите измерения контрольной сыворотки «Норма» (TruLab N), контрольной сыворотки «Патология» (TruLab P), контрольной мочи Уровень 1 (TruLab Urine Level 1) и контрольной мочи Уровень 2 (TruLab Urine Level 2) производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия).

Возможно использование других контрольных сывороток, другой контрольной мочи,

тестованных данным методом и не уступающих по своим свойствам рекомендуемым.

Калибровку рекомендуем проводить в следующих случаях: при непрохождении контроля качества (в случае выхода значений контроля качества за пределы установленных диапазонов для используемого лота контрольного материала), при использовании набора новой серии, при уточнении фактора пересчета.

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В сыворотке/плазме крови и моче (В.С. Камышников, 2014):

Сыворотка/плазма крови Активность α -Амилазы

Дети:

2 – 4 сут.	5,0 – 65 Е/л
4 сут. – 1 год	до 30 Е/л
1 – 16 лет	до 120 Е/л

Взрослые:

16 – 60 лет	27 – 131 Е/л
60 – 90 лет	24 – 151 Е/л

Моча

Дети:

до 1 года	до 105 Е/л
1 – 16 лет	до 160 Е/л

Взрослые:

до 560 Е/л

Рекомендуем в каждой лаборатории уточнять диапазон значений нормальных величин для обследуемого контингента людей.

ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка крови. Сыворотку крови отделить от форменных элементов крови не позднее, чем через 1 час после забора крови.

Гепаринизированная или ЭДТА-плазма.

Моча, полученная в течение 1 ч или за 24 ч. α -Амилаза очень нестабильна в кислой моче, поэтому перед хранением рН мочи необходимо довести до щелочных пределов.

Стабильность в сыворотке/плазме:	7 дней	при 15 – 25°C
	4 мес.	при 2 – 8°C
	1 год	при –20°C
Стабильность в моче:	7 дней	при 2 – 8°C
	4 мес.	при –20°C

Загрязненные образцы хранению не подлежат!

Замораживать образцы можно не более одного раза!

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а (Приказ Минздрава РФ от 06.06.2012 № 4н).

Слюна и кожа содержат α -амилазу, поэтому не пипетируйте реагенты ртом и избегайте контакта реагента с кожей.

При работе с реагентами набора соблюдайте осторожность и не допускайте их попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промойте пораженное место большим

личеством проточной воды. При проглатывании выпейте 0,5 л теплой воды и вызовите рво-

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» (Москва, 1981 г.).

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

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Биреагентная схема – запуск реакции субстратом.

Реагенты 1 и 2 готовы к использованию.

Монореагентная схема – запуск реакции образцом.

Для приготовления рабочего реагента: смешать 4 объема Реагента 1 и один объем Реагента 2. Для стабилизации компонентов раствора, рабочий реагент перед использованием следует выдержать 20-30 мин при комнатной температуре (15-25°C). Рабочий реагент можно хранить в защищенном от света месте при температуре 2-8°C в течение 6 месяцев или при комнатной температуре (15-25°C) в течение 1 месяца, при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения.

Следует тщательно закрывать флаконы с Реагентами 1 и 2 непосредственно после каждого использования, в том числе при хранении на борту автоматических биохимических анализаторов (в нерабочее время).

Лиофилизированный мультикалибратор TruCal U производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия) готовят согласно прилагаемой к каждому лоту инструкции.

При наличии системы идентификации набора реагентов активировать анализатор с помощью Идентификационной метки способом, предусмотренным производителем анализатора.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Адаптации к автоматизированным системам запрашивайте дополнительно.

Перед проведением анализа рабочий реагент следует прогреть при температуре $37 \pm 1,0^\circ\text{C}$ в течение 5 мин.

Компоненты реакционной смеси отбирайте в количествах, указанных в таблицах.

Биреагентная схема – запуск реакции субстратом.

Отмерить, мкл*	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Сыворотка или плазма/Моча
Вода дистиллированная	30	–	–
Мультикалибратор	–	30	–
Образец	–	–	30/15
Реагент 1	1000	1000	1000
Перемешать, инкубировать 1 мин, затем добавить:			
Реагент 2	250	250	250

перемешать. Через 2 мин измерить оптическую плотность (A_1) и включить секундомер. Измерить оптическую плотность (A_2) через 1, 2 и 3 мин при длине волны 405 нм, при 37°C, относительно холостой пробы, в кюветах с длиной оптического пути 1 см.

Флюоресцентная схема – запуск реакции образцом.

Отмерить, мкл*	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Сыворотка или плазма / Моча
Вода дистиллированная	30	–	–
Мультикалибратор	–	30	–
Образец	–	–	30/15
Рабочий реагент	1000	1000	1000

Пробу и рабочий реагент перемешать. Через 2 мин измерить оптическую плотность (A_1) и включить секундомер. Измерить оптическую плотность (A_2) через 1, 2 и 3 мин при длине волны 405 нм, при 37°C, относительно холостой пробы, в кюветах с длиной оптического пути 1 см.

Вычислить среднее значение $\Delta A/\text{мин}$ образца/мультикалибратора

Примечания: Количество реагентов и анализируемых образцов может быть пропорционально изменено в зависимости от объема используемой кюветы и типа используемого биохимического анализатора (соотношение сыворотки крови/плазмы и мочи к рабочему реагенту составляет 1:33 и 1:67, соответственно).

РАСЧЕТЫ

По мультикалибратору

$$\text{Активность } \alpha\text{-амилазы [Е/л]} = \frac{\Delta A / \text{мин}_{\text{оп}}}{\Delta A / \text{мин}_{\text{кал}}} \times \text{Активность } \alpha\text{-амилазы в мультикалибраторе [Е/л]}$$

где: $\Delta A/\text{мин}_{\text{оп}}$ – изменение оптической плотности опытной пробы в минуту, ед.опт.пл.;

$\Delta A/\text{мин}_{\text{кал}}$ – изменение оптической плотности калибровочной пробы в минуту, ед.опт.пл.

По фактору (указан в паспорте к набору).

Определение активности α -амилазы можно проводить по фактору, который указывается в паспорте к набору (фактор зависит от типа используемого анализатора). Рекомендуем уточнять значение фактора по мультикалибратору TruCal U производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия), аттестованному по активности α -амилазы в соответствии с методикой IFCC.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ/ПОМЕХОУСТОЙЧИВОСТЬ

Аскорбиновая кислота до 300 мкг/мл, билирубин до 684 мкмоль/л, липемия до 11,26 ммоль/л триглицеридов не влияют на точность анализа. Гемоглобин, даже при низких концентрациях, мешает определению. В составе набора содержатся вещества (АЛФ), устраняющие липемичность сыворотки.

Увеличивают активность фермента вещества, вызывающие сокращение сфинктера Одди, а также алкоголь, клофибрат, эстрогены, фуросемид, ибупрофен, пероральные контрацептивы, тетрациклин, тиазидные диуретики.

ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться 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. Замораживание компонентов набора не допускается.

Транспортирование должно производиться с использованием крытого грузового автомобиля, ж/д 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 5 суток.

Срок годности набора – 18 месяцев.

Срок годности Идентификационной метки – ограничен моментом активации анализатора.

При соблюдении условий хранения все компоненты набора стабильны в течение всего срока годности.

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

Рабочий реагент можно хранить в защищенном от света месте при температуре 2-8°C в течение 6 месяцев или при комнатной температуре (15-25°C) в течение 1 месяца, при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения.

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

ТРЕБОВАНИЯ ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Набор (α -АМИЛАЗА ДДС) не содержит взрывоопасных веществ, представляющих угрозу окружающей среде и здоровью медицинского персонала.

УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ

Набор реагентов α -АМИЛАЗА ДДС предназначен для применения в клинико-диагностических лабораториях. При работе с набором следует соблюдать требования ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

Утилизацию или уничтожение Набора реагентов, неиспользованных реактивов, дезинфекцию следует проводить в соответствии с СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» для Класа «Б» медицинских отходов и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

АО «ДИАКОН-ДС» гарантирует качество, эффективность и безопасность медицинского изделия, отсутствие недопустимого риска причинения вреда жизни, здоровью человека и окружающей среде при использовании набора реагентов по назначению в условиях, предусмотренных данной инструкцией по применению.

Гарантийные обязательства АО «ДИАКОН-ДС» распространяются с даты изготовле-

и на период срока годности медицинского изделия, при условии надлежащего транспортирования, хранения и эксплуатации.

По вопросам, касающимся качества набора α -АМИЛАЗА ДДС, следует обращаться в АО «ДИАКОН-ДС» по адресу: 142290, г. Пушкино, Московской обл., Ул. Грузовая 1а; тел. (95) 980-63-38, т/факс (495) 980-66-79.

Начальник Отдела Исследований и Разработок
АО «ДИАКОН-ДС»

к.б.н. О.Ю. Гудкова

«СОГЛАСОВАНО»
Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



П.К. Варнавичус
05 2019 г.



ПРОШЕТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 8 ЛИСТОВ

«22» 05 2019 год



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