

Версия 1-2021

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

А.Г. Плехов

2021 г.



ИНСТРУКЦИЯ

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

**« α -АМИЛАЗА-ВИТАЛ»,
ТУ 21.20.23-104-94568735-2021**

1. НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1.1. Набор реагентов для определения активности α -амилазы в сыворотке (плазме) крови и моче энзиматическим кинетическим методом « α -АМИЛАЗА-ВИТАЛ» (далее по тексту - набор) предназначен для количественного определения активности α -амилазы в сыворотке (плазме) крови и суточной моче человека в клинической лабораторной диагностике, клинической медицине, медицинской биохимии и научно-исследовательской практике. Набор предназначен для лабораторной *in vitro* диагностики и должен применяться специалистами, имеющими необходимую квалификацию в данной области в соответствии с требованиями документов, регламентирующих деятельность лаборатории.

1.2. Показания к использованию набора – определение активности α -амилазы в сыворотке (плазме) крови и суточной моче с целью диагностики, мониторинга и контроля терапии заболеваний и повреждений поджелудочной железы и других органов желудочно-кишечного тракта.

1.3. Набор может быть использован для исследования всех групп населения без градации по демографическому или популяционному признаку. Противопоказаний не имеет.

1.4. Целевой анализ. α -амилаза – фермент класса гидролаз, катализирует расщепление полисахаридов (крахмала, гликогена) до простых углеводов (мальтоза, глюкоза); в сыворотке крови выделяют два изофермента – панкреатическую (Р-тип) и слюнную (S-тип) α -амилазу, которые продуцируются поджелудочной железой и слюнными железами, соответственно.

Повышение активности α -амилазы в сыворотке (плазме) крови и суточной моче наблюдается при заболеваниях поджелудочной железы (острый панкреатит, рецидив хронического панкреатита, острый алкогольный панкреатит, киста) и других органов желудочно-кишечного тракта (острый аппендицит, перитонит, перфорирующая язва желудка и 12-перстной кишки, кишечная непроходимость), операциях и травмах брюшной полости, заболеваниях желчевыводящих путей (острый холецистит), воспалении слюнных желез (эпидемический паротит).

Снижение активности α -амилазы в сыворотке (плазме) крови наблюдается при терминальной стадии некроза поджелудочной железы, тяжелой форме тиреотоксикоза.



При макроамилаземии в сыворотке (плазме) крови наблюдаются повышенные значения активности α -амилазы, при этом в суточной моче значения активности α -амилазы близки к нижней границе нормальных величин.

1.5. Варианты исполнения:

Комплект 1:

- реагент 1 – 1 флакон (48 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (12 мл).

Комплект 2:

- реагент 1 – 1 флакон (96 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (24 мл),

Комплект 3:

- реагент 1 – 1 флакон (200 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (50 мл).

Комплект 4:

- реагент 1 – 2 флакона (по 40 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 11 мл).

Комплект 5:

- реагент 1 – 4 флакона (по 40 мл),
- реагент 2 – 4 флакона (по 11 мл).

Комплект 6:

- реагент 1 – 3 флакона (по 20 мл),
- реагент 2 – 3 флакона (по 5,5 мл).

Комплект 7:

- реагент 1 – 8 флаконов (по 20 мл),
- реагент 2 – 8 флаконов (по 5,5 мл).

Комплект 8:

- реагент 1 – 2 флакона (по 50 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 15 мл).

Комплект 9:

- реагент 1 – 4 флакона (по 50 мл),
- реагент 2 – 4 флакона (по 15 мл),

Комплект 10:

- реагент 1 – 1 флакон (70 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (20 мл).

Комплект 11:

- реагент 1 – 3 флакона (по 70 мл),
- реагент 2 – 3 флакона (по 20 мл).

Комплект 12:

- реагент 1 – 6 флаконов (по 70 мл),
- реагент 2 – 6 флаконов (по 20 мл).

Комплект 13:

- реагент 1 – 1 флакон (38 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (10 мл).

Комплект 14:

- реагент 1 – 4 флакона (по 20 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 10 мл).



При макроамилаземии в сыворотке (плазме) крови наблюдаются повышенные значения активности α -амилазы, при этом в суточной моче значения активности α -амилазы близки к нижней границе нормальных величин.

1.5. Варианты исполнения:

Комплект 1:

- реагент 1 – 1 флакон (48 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (12 мл).

Комплект 2:

- реагент 1 – 1 флакон (96 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (24 мл),

Комплект 3:

- реагент 1 – 1 флакон (200 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (50 мл).

Комплект 4:

- реагент 1 – 2 флакона (по 40 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 11 мл).

Комплект 5:

- реагент 1 – 4 флакона (по 40 мл),
- реагент 2 – 4 флакона (по 11 мл).

Комплект 6:

- реагент 1 – 3 флакона (по 20 мл),
- реагент 2 – 3 флакона (по 5,5 мл).

Комплект 7:

- реагент 1 – 8 флаконов (по 20 мл),
- реагент 2 – 8 флаконов (по 5,5 мл).

Комплект 8:

- реагент 1 – 2 флакона (по 50 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 15 мл).

Комплект 9:

- реагент 1 – 4 флакона (по 50 мл),
- реагент 2 – 4 флакона (по 15 мл),

Комплект 10:

- реагент 1 – 1 флакон (70 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (20 мл).

Комплект 11:

- реагент 1 – 3 флакона (по 70 мл),
- реагент 2 – 3 флакона (по 20 мл).

Комплект 12:

- реагент 1 – 6 флаконов (по 70 мл),
- реагент 2 – 6 флаконов (по 20 мл).

Комплект 13:

- реагент 1 – 1 флакон (38 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (10 мл).

Комплект 14:

- реагент 1 – 4 флакона (по 20 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 10 мл).

Варианты исполнения рассчитаны* на:

- Комплект 1 – 120 определений,
- Комплект 2 – 240 определений,
- Комплект 3 – 500 определений,
- Комплект 4 – 400 определений,
- Комплект 5 – 800 определений,
- Комплект 6 – 285 определений,
- Комплект 7 – 760 определений,
- Комплект 8 – 560 определений,
- Комплект 9 – 1120 определений,
- Комплект 10 – 415 определений,
- Комплект 11 – 1245 определений,
- Комплект 12 – 2490 определений,
- Комплект 13 – 180 определений,
- Комплект 14 – 340 определений.

*В зависимости от параметров для ввода, указанных в руководстве пользователя для анализатора.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ

α -Амилаза катализирует реакцию гидролиза синтетического субстрата EPS (4,6-этилиден(G₇)-п-нитрофенил(G₁)- α ,D-мальтогептаозид) с образованием неокрашенных нитрофенилмальтозидов. В реакции гидролиза нитрофенилмальтозидов под действием α -глюкозидазы образуются глюкоза и окрашенный п-нитрофенол. Скорость образования п-нитрофенола пропорциональна активности α -амилазы в анализируемом образце и измеряется фотометрически по увеличению оптической плотности при длине волны 405 (400-420) нм.

3. СОСТАВ

- реагент 1: HEPES (N,N-бис[2-гидроксиэтил-2-аминоэтансульфоновая] кислота), 100 ммоль/л; α -глюкозидаза, 2500 Е/л; бридж 35, 10 г/л; натрия азид, 0,095%; готов к использованию:

- комплект 1 - 1 флакон (48 мл),
- комплект 2 - 1 флакон (96 мл),
- комплект 3 - 1 флакон (200 мл),
- комплект 4 - 2 флакона (по 40 мл),
- комплект 5 - 4 флакона (по 40 мл),
- комплект 6 - 3 флакона (по 20 мл),
- комплект 7 - 8 флаконов (по 20 мл),
- комплект 8 - 2 флакона (по 50 мл),
- комплект 9 - 4 флакона (по 50 мл),
- комплект 10 - 1 флакон (70 мл),
- комплект 11 - 3 флакона (по 70 мл),
- комплект 12 - 6 флаконов (по 70 мл),
- комплект 13 - 1 флакон (38 мл),
- комплект 14 - 4 флакона (по 20 мл).

- реагент 2: HEPES (N,N-бис[2-гидроксиэтил-2-аминоэтансульфоновая] кислота), 100 ммоль/л; EPS, 5 ммоль/л; бридж 35, 1 г/л; натрия азид, 0,095%, готов к использованию:

- комплект 1 - 1 флакон (12 мл),
- комплект 2 - 1 флакон (24 мл),
- комплект 3 - 1 флакон (50 мл),
- комплект 4 - 2 флакона (по 11 мл),
- комплект 5 - 4 флакона (по 11 мл),
- комплект 6 - 3 флакона (по 5,5 мл),
- комплект 7 - 8 флаконов (по 5,5 мл),

- комплект 8 - 2 флакона (по 15 мл),
- комплект 9 - 4 флакона (по 15 мл),
- комплект 10 - 1 флакон (20 мл),
- комплект 11 - 3 флакона (по 20 мл),
- комплект 12 - 6 флаконов (по 20 мл),
- комплект 13 - 1 флакон (10 мл),
- комплект 14 - 2 флакона (по 10 мл).

Примечание:

При постановке анализа могут быть использованы многокомпонентные калибраторы, аттестованные данным методом и зарегистрированные в установленном порядке.

4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Линейная область определения – в диапазоне 20-1320 Е/л.

Чувствительность – 20 Е/л.

Коэффициент вариации – не более 5 %.

Аналитическая специфичность набора: такие потенциально интерферирующие вещества, как гемоглобин до концентрации 13 г/л, билирубин до концентрации 650 мкмоль/л, триглицериды до концентрации 29,4 ммоль/л, аскорбиновая кислота до концентрации 83 мг/дл и общий белок до концентрации 100 г/л не влияют на правильность определения активности α -амилазы.

Качество набора может проверяться по контрольным материалам, аттестованным данным методом и зарегистрированным в установленном порядке.

Нормальные величины активности α -амилазы в сыворотке (плазме) крови - 25-110 Е/л, в суточной моче – 20-500 Е/сут.

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

Аналитические характеристики набора установлены в соответствии с ГОСТ Р 53022.2-2008, ГОСТ ISO 17511-2011.

5. ОБРАЗЦЫ

Свежая негемолизированная сыворотка крови или плазма крови (гепарин), суточная моча.

Взятие крови для анализа следует проводить с использованием стандартных процедур для венозной крови.

Образцы сыворотки (плазмы) крови можно хранить не более 7 суток при температуре +2-8°C или не более 1 месяца при температуре -18°C. Повторное замораживание образцов сыворотки (плазмы) крови не допускается. Образцы суточной мочи можно хранить не более 7 суток при температуре +2-8°C, замораживание образцов не допускается. Пробирки с образцами следует плотно закрывать.

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Реагенты содержат токсичное вещество – натрия азид. При попадании компонентов набора в глаза, на кожу и слизистые следует промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании следует выпить 0,5 л воды, вызвать рвоту, обратиться к врачу.

Для получения достоверных результатов следует избегать контакта рабочего реагента или реагентов 1, 2 с кожей пальцев и слюной из-за высокого содержания α -амилазы, работать в перчатках и маске!

При работе с Набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 и СП 1.3.2322-08.

При работе с набором и образцами сыворотки (плазмы) крови или суточной мочи человека следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, рассматривать

образцы как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Физические риски (возможность самопроизвольного взрыва или возгорания) отсутствуют.

7. ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- спектрофотометр с термостатируемой кюветой с длиной оптического пути 10 мм, полуавтоматический или автоматический биохимический анализатор с возможностью выполнения кинетического измерения при длине волны 405 (400-420) нм при температуре инкубации +37°C;
- термостат, обеспечивающий температуру +37±1°C;
- секундомер;
- дозаторы полуавтоматические одноканальные с одноразовыми наконечниками;
- пробирки вместимостью 1-2 мл;
- колба вместимостью 50 мл;
- дистиллированная вода;
- физиологический раствор (0,9 % раствор NaCl);
- перчатки резиновые или пластиковые.

Примечание. Использование набора на каждом анализаторе осуществляется в соответствии с руководством пользователя для анализатора. Параметры для ввода в программу анализаторов предоставляются по запросу.

8. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Подготовка реагентов 1, 2 (монореагентный метод)

Приготовление рабочего реагента: внести в колбу вместимостью 50 мл необходимое количество реагента 1 и реагента 2 в соотношении 4:1 и перемешать.

Подготовка реагентов 1, 2 (биреагентный метод)

Реагенты 1, 2 готовы к использованию.

Непосредственно перед использованием рабочий реагент, реагенты 1, 2 нагреть до температуры +37°C.

Для получения достоверных результатов следует избегать контакта рабочего реагента или реагентов 1, 2 с кожей пальцев и слюной из-за высокого содержания α-амилазы, работать в перчатках и маске!

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны: 405 (400-420) нм;

Длина оптического пути: 10 мм;

Температура инкубации: +37°C;

Фотометрирование: против воды или рабочего реагента.

Проведение анализа монореагентным методом:

В термостатируемую (+37°C) кювету спектрофотометра внести 0,5 мл рабочего реагента, добавить 0,02 мл анализируемого образца сыворотки (плазмы) крови или 0,01 мл анализируемого образца суточной мочи, пробу тщательно перемешать и одновременно включить секундомер, инкубировать 2 минуты (точно!), измерить оптическую плотность (E). Замер оптической плотности повторить 3 раза с интервалом 1 минуту (точно!).

Проведение анализа биреагентным методом:

В термостатируемую (+37°C) кювету спектрофотометра внести 0,4 мл реагента 1, добавить 0,02 мл анализируемого образца сыворотки (плазмы) крови или 0,01 мл анализируемого образца суточной мочи, пробу тщательно перемешать и одновременно включить секундомер, инкубировать 1 минуту, добавить 0,1 мл реагента 2, пробу тщательно перемешать, инкубировать 2 минуты (точно!), измерить оптическую плотность (E). Замер оптической плотности повторить 3 раза с интервалом 1 минуту (точно!).

Примечание.

Расход рабочего реагента, реагентов 1, 2 и анализируемых образцов зависит от типа используемого прибора и объема кюветы.

10. РАСЧЕТЫ

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

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

где: ΔE_n – изменение оптической плотности пробы, ед. опт. плотн.;

t – интервал времени между определениями, мин.

Активность α -амилазы (A) в анализируемом образце сыворотки (плазмы) крови определить по формуле:

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

где: $\Delta E / \text{мин}$ – изменение оптической плотности пробы за 1 минуту, ед. опт. плотн.;

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

Активность α -амилазы (A) в анализируемом образце суточной мочи определить по формуле:

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

где: $\Delta E / \text{мин}$ – изменение оптической плотности пробы за 1 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, л.

Примечание.

Коэффициент пересчета единиц измерения 1 Е/л = 16,67 нмоль/(схл).

Если значение активности α -амилазы в анализируемой пробе превышает 1320 Е/л. анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором, повторить определение и полученный результат умножить на фактор разведения.

11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя и его транспортирование всеми видами крытого транспорта допускается при температуре +2-8°C в течение всего срока годности. при температуре до +25°C – не более 2 суток, замораживание компонентов набора не допускается.

Использование набора, транспортировавшегося или хранившегося с нарушением регламентированного температурного режима, не допускается.

12. УСЛОВИЯ ЭКСПЛУАТАЦИИ

Срок годности набора – 36 месяцев.

Реагенты 1, 2 после вскрытия флаконов можно хранить при температуре +2-8°C не более 3 месяцев.

Рабочий реагент можно хранить при температуре +2-8°C не более 10 суток.

Оптическая плотность рабочего реагента, измеренная при длине волны 405 нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм, не должна превышать 0,1 ед. опт. плотн.

Реагенты 1 и 2 можно хранить на борту анализатора не более 1 месяца при условии круглосуточного охлаждения.

Рабочий реагент можно хранить на борту анализатора не более 10 суток при условии круглосуточного охлаждения.

Необходимо обеспечивать достаточную герметичность флаконов!

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа могут привести к получению неверных результатов исследования.

До окончания срока годности набора, при условии соблюдения температурного режима хранения, транспортирования и эксплуатации, производитель гарантирует работоспособность набора и соответствие всех аналитических и диагностических характеристик набора заявленным. Не допускается использование серии набора по истечении срока ее годности. Техническое обслуживание и ремонт медицинского изделия для диагностики *in vitro* не применяются.

Производитель произвел верификацию, валидацию и оценку стабильности набора в соответствии с ГОСТ Р ИСО 23640-2015. Результаты исследований, отраженные в соответствующих протоколах, признаны удовлетворяющими параметрам, заявленным в настоящей технической документации.

Оценка рисков, связанных с возможным изменением параметров проведения анализа (изменение температуры и времени инкубации), проводилась в соответствии с ГОСТ ISO 14971-2011. По результатам анализа риски минимизированы до уровня «приемлемый».

13. СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

Утилизацию использованных реагентов и реагентов с истекшим сроком годности производить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 в отношении отходов класса «Б».

Дезинфекцию следует проводить в соответствии с МУ 287-113.

14. ЗАЩИТА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Производитель гарантирует, что набор разработан и произведен с целью предотвращения любых рисков для окружающей среды. Набор в процессе использования не оказывает воздействия на окружающую среду и не приводит к ущербу для нее при соблюдении всех мер безопасности и утилизации набора, рекомендованных производителем.

15. ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться к производителю - в Акционерное Общество «Витал Девелопмент Корпорэйшн» (АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн») по адресу:

194356, Санкт-Петербург, Дорога в Каменку, д. 56, лит. А.

Тел/факс: (812) 702-10-86, 8(800) 200-23-24

Генеральный директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

А.Г. Плехов

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

П.К. Варнавичус



ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 7 ЛИСТОВ

«08» 08 2021 год

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



**Прошито, пронумеровано,
и скреплено печатью**

Всего 7 листа(ов)

Ген. директор Плехов А.Г.

