



«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ООО "ОЛЬВЕКС ДИАГНОСТИКУМ"

О.В. Толстова

19 мая 2017 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения активности
альфа-амилазы в сыворотке крови и моче кинетическим методом
(Альфа-АМИЛАЗА-ОЛЬВЕКС)
(Взамен инструкции, утвержденной 28.12.2004)

Назначение

«Набор реагентов для определения активности альфа-амилазы в сыворотке крови и моче кинетическим методом (Альфа-АМИЛАЗА-ОЛЬВЕКС)» предназначен для количественного определения активности альфа-амилазы в сыворотке крови и моче человека кинетическим методом в клинической лабораторной диагностике.

Потенциальный пользователь набора: специалист клинико-диагностической лаборатории.

Диагностическая роль.

Сыворотка крови: активность альфа-амилазы (далее α -амилаза) у детей первых двух месяцев низкая; она повышается до уровня взрослых к концу первого года жизни.

Повышение активности α -амилазы наблюдается при следующих процессах: паротит, панкреатит, обтурационная и странгуляционная непроходимость или инфаркт кишки, эктопическая беременность, перфорация полого органа, заболевания желчных путей всех типов, диабетический кетоацидоз, киста или псевдокиста поджелудочной железы, перитонит, макроамилаземия, некоторые опухоли легких и яичников, почечная недостаточность, эндоскопическая ретроградная холангиопанкреатография, абдоминальная травма, повреждение черепа, вирусные инфекции, состояния после операции, алкоголь.

Снижение активности α -амилазы выявляется при: функциональной недостаточности поджелудочной железы, выраженном муковисцидозе, тяжелом поражении печени, панкреатэктомии.

Моча суточная: см. Сыворотка крови. Однако, значения могут быть нормальными или пониженными при почечной недостаточности, макроамилаземии. Амилаза в моче может оставаться повышенной в течение 2 недель после приступа острого панкреатита и может предположить образование псевдокисты. (Энциклопедия клинических лабораторных тестов. Под редакцией Н. Тица).

Характеристика изделия

Состав набора.

В состав набора реагентов входят следующие компоненты:

- Реагент 1 (буферный раствор), содержащий HEPES 100 ммоль/л; магний хлористый 10 ммоль/л; натрий хлористый 50 ммоль/л; азид натрия 0,9 г/л; холевой кислоты натриевую соль 0,5 г/л; α -глюкозидазу 67000 Е/л; натрия гидроокись до рН 7,10.

- Реагент 2 (субстрат), содержащий NEPES 100 ммоль/л; магний хлористый 10 ммоль/л; натрий хлористый 50 ммоль/л; азид натрия 0,9 г/л; холевой кислоты натриевую соль 0,5 г/л; EPS 5,0 ммоль/л; натрия гидроокись до pH 7,10.

Информация для заказа:

Кат. №	Реагент 1	Реагент 2
011.002	1 фл. х 40 мл	1 фл. х 10 мл
011.012	1 фл. х 80 мл	1 фл. х 20 мл
011.022	1 фл. х 200 мл	1 фл. х 50 мл

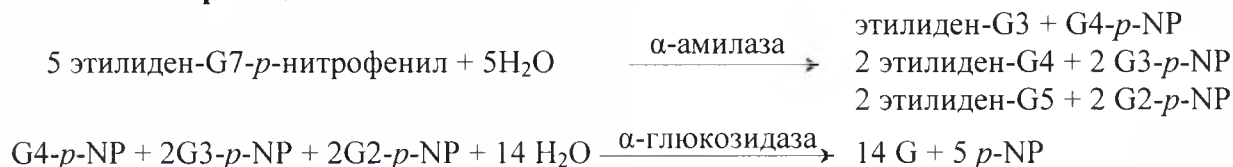
Количество определений.

Количество определений зависит от характеристик используемого биохимического анализатора и минимального рабочего объёма кюветы. Согласно стандартной процедуре анализа набор рассчитан на проведение 50, 100 или 250 определений при расходе 1,0 мл рабочего реагента на один анализ.

Принцип метода.

Под действием фермента α -амилазы синтетический субстрат EPS [4,6-этилиден(G7)-*p*-нитрофенил-(G1)- α ,D-мальтогептаозид] гидролизуетсся с образованием нитрофенилмальтозидов, которые подвергаются дальнейшему расщеплению α -глюкозидазой до глюкозы (G) и окрашенного продукта реакции *p*-нитрофенола (*p*-NP). Скорость нарастания концентрации *p*-нитрофенола в ходе второй реакции определяется по увеличению оптической плотности реакционной среды при 405 нм и пропорциональна активности α -амилазы.

Схема реакции:



Аналитические характеристики изделия

Набор обеспечивает линейную область определения активности α -амилазы в диапазоне от 150 до 1500 Е/л, отклонение от линейности не более 5%.

Чувствительность определения не более 100 Е/л.

Коэффициент вариации результатов определений не более 5%.

Качество набора может проверяться при помощи отечественных или зарубежных контрольных сывороток с аттестованным по данному методу показателем.

Нормальные величины активности альфа-амилазы в сыворотке крови до 220 Е/л, в моче до 900 Е/24 часа.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнять диапазон нормальных величин для обследуемого контингента.

Меры предосторожности при работе с изделием

Потенциальный риск применения набора – класс 2а (приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н). Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными. В случае разбрызгивания и попадания реагентов на кожу и слизистые необходимо пораженный участок промыть большим количеством проточной воды.

При работе с набором следует надевать перчатки медицинские одноразовые, так как образцы сыворотки крови и мочи человека следует рассматривать как потенциально инфекционные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или возбудителей других инфекций.

Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

Запрещается приём пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

Для дезинфекции посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество набора, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС, спиртов, третичных аминов. Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор (H_2O_2 , деохлор, хлорамин), приводит к серьёзному искажению результатов.

Твёрдые и жидкие отходы, образующиеся в результате использования набора реагентов, относятся к классу Б согласно классификации медицинских отходов СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию использованных реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

Неиспользованные наборы реагентов, потерявшие свои потребительские свойства, а также с истекшим сроком годности, относятся к классу А согласно классификации медицинских отходов СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и подлежат утилизации.

Наборы реагентов, подлежащие утилизации, вскрыть и вынуть из них флаконы с реагентами. Флаконы с Реагентом 1 и Реагентом 2 утилизируются путем сливания жидких компонентов в отдельную ёмкость с последующим разведением водой 1:100 и сливом в канализацию. Остатки упаковок вывозятся как производственный или бытовой мусор.

Оборудование и материалы, необходимые при работе с изделием:

- спектрофотометр, длина волны 405 нм, оснащенный термостатируемой кюветой $+37^\circ\text{C}$ с длиной оптического пути 1,0 см; полуавтоматический или автоматический биохимический анализатор;
- таймер;
- термостат, поддерживающий температуру $+37\pm 1^\circ\text{C}$;
- мерный цилиндр вместимостью 50 мл;
- пипетки, позволяющие отбирать объёмы жидкости 0,04 мл, 0,02 и 1,0 мл;
- перчатки медицинские одноразовые.

Для проведения анализа рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки, со сменными наконечниками, аттестованными на точность по значению средней дозы и сходимости результатов дозирования.

Анализируемые образцы

Свежая сыворотка крови без гемолиза. Не влияют на результат анализа: билирубин до 684 мкмоль/л, триглицериды до 22 ммоль/л, гемоглобин до 10 г/л. Активность фермента в исследуемом материале сохраняется 5 дней при температуре $+(2-8)^\circ\text{C}$.

Моча. Для сбора суточной мочи необходимо довести значение pH мочи до щелочных пределов.

При работе с исследуемыми образцами необходимо соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991г., и в методических указаниях МУ 287-113

(«Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения», утв. департаментом Госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998г).

Подготовка компонентов для исследования (анализа)

Перед проведением анализа смешать необходимые количества Реагента 1 и Реагента 2 в соотношении 4:1. Рабочий реагент стабилен при температуре $+(2-8)^{\circ}\text{C}$ в защищённом от света месте в плотно закрытом флаконе 10 дней. Тщательно закрывать флаконы с Реагентами 1 и 2 непосредственно после каждого использования.

Для контроля правильности и воспроизводимости результата лабораторного анализа рекомендуется использовать контрольные сыворотки с аттестованным по данному методу показателем.

Тщательно закрывать флаконы с реагентами непосредственно после каждого использования реагентов. Избегайте случайного загрязнения реагентов и исследуемого материала слюной и потом!

Проведение анализа

Рабочий реагент перед проведением анализа следует нагреть до температуры $+37^{\circ}\text{C}$.

Исследование проводить непосредственно в термостатируемой $+37^{\circ}\text{C}$ фотометрической кювете анализатора с длиной оптического пути 1 см при длине волны 405 нм против воздуха или воды.

Для сыворотки крови: смешать 1,0 мл предварительно прогретого рабочего реагента и 0,04 мл анализируемого материала (соотношение реагент/образец 25 : 1).

Для мочи: смешать 1,0 мл предварительно прогретого рабочего реагента и 0,02 мл анализируемого материала (соотношение реагент/образец 50 : 1).

Через 3 минуты начните считывание величины экстинкции с интервалом в 1 минуту в течение 3 минут. Вычислите среднее изменение экстинкции за 1 минуту ($\Delta E/\text{мин}$).

Если $\Delta E/\text{мин}$ превышает 0,180 Abs, развести исследуемый образец физиологическим раствором в 10 раз и повторить анализ; результат умножить на фактор разведения 10.

Расчёты

Активность α -амилазы (Е/л) в исследуемом образце рассчитать по формуле:

для сыворотки крови $A = 8204 \times \Delta E_{405\text{нм}} / \text{мин}$

для порционной мочи $A = 16408 \times \Delta E_{405\text{нм}} / \text{мин}$

для суточной мочи $A = 16408 \times \Delta E_{405\text{нм}} / \text{мин} \times V$

где: A - активность α -амилазы, Е/л;

$\Delta E_{405\text{нм}} / \text{мин}$ – среднее значение изменений оптической плотности пробы за 1 минуту;

8204 и 16408 – фактор пересчета, соответственно для сыворотки крови и мочи*;

V – суточный диурез, л.

*При использовании в лаборатории нормальных значений активности α -амилазы в сыворотке крови 25-120 Е/л, а в моче до 460 Е/л (согласно рекомендациям IFCC) следует принимать фактор пересчёта соответственно 3141 и 6282.

Условия хранения, транспортирования и эксплуатации изделия

Условия хранения.

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре $+(2-8)^{\circ}\text{C}$ и относительной влажности не более 80 % в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим, в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до $+25^{\circ}\text{C}$ не более 5 дней.

Срок годности набора 36 месяцев.

Условия транспортирования.

Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта. Транспортирование изделий должно осуществляться в термоконтейнерах одноразового пользования, содержащих хладагенты, или в термоконтейнерах многоразового применения с автоматически поддерживаемой температурой или авторефрижераторах при температуре $+(2-8)^{\circ}\text{C}$ и относительной влажности не более 80 %. Допускается транспортирование наборов при температуре до $+25^{\circ}\text{C}$ не более 5 дней.

Изделия, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

Условия эксплуатации изделия.

Рабочий реагент стабилен 10 дней при условии достаточной герметизации флакона и хранении в защищённом от света месте при температуре $+(2-8)^{\circ}\text{C}$.

Реагент 1 и Реагент 2 после вскрытия флаконов стабильны не менее 6 месяцев при условии достаточной герметизации флакона и хранении в защищённом от света месте при температуре $+(2-8)^{\circ}\text{C}$.

После подготовки изделия к эксплуатации, исследования проводить в нормальных климатических условиях.

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

Изделия, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

Гарантии изготовителя

Предприятие-изготовитель Общество с ограниченной ответственностью «ОЛЬВЕКС ДИАГНОСТИКУМ» (ООО «ОЛЬВЕКС ДИАГНОСТИКУМ») гарантирует соответствие набора требованиям технических условий ТУ 21.20.23-024-44276594-2017 «Набор реагентов для определения активности альфа-амилазы в сыворотке крови и моче кинетическим методом (Альфа-АМИЛАЗА-ОЛЬВЕКС)».

При соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных техническими условиями срок годности набора 36 месяцев со дня приемки ОТК предприятия-изготовителя.

Изделия, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

По вопросам, касающимся качества набора «Альфа-АМИЛАЗА-ОЛЬВЕКС», следует обращаться в ООО «ОЛЬВЕКС ДИАГНОСТИКУМ».

Юридический адрес: Россия, 199155, Санкт-Петербург, пер. Декабристов д.5/17, пом.1.

Адрес производства: Россия, 192029, Санкт-Петербург, пр. Обуховской обороны, д.70, корп.2, лит. А, пом.1Н.

Адрес для почтовых отправок: 192029, Санкт-Петербург, а/я 3.

Тел./факс (812) 412-83-02, e-mail: office@olvex-d.ru.

Главный научный сотрудник
ООО «ОЛЬВЕКС ДИАГНОСТИКУМ»

Юшин К.В.

Пронумеровано, прошнуровано и скреплено печатью
в количестве 5 (пяти) листов

19 МАЙ 2017

Генеральный директор

ООО «ОЛЬВЕКС ДИАГНОСТИКУМ»



О.В. Толстова