



Інструкція з використання набору реагентів для визначення активності альфа-амілази за методом Каравея в сироватці, плазмі крові та сечі «α-Амілаза по Каравею СпЛ»

IN VITRO

P1	1 x 100 мл
P2	1 x 4 мл
P3	1 x 10 мл

Зберігати при 2-8°C

Набір розрахований на 100 визначень з урахуванням холостих проб при витраті робочого розчину відповідно цієї методики.

Принцип методу

α-Амілаза розщеплює крохмаль по Літнер з утворенням продуктів, які не дають кольорової реакції з йодом. Зменшення інтенсивності забарвлення йод-крохмального комплексу в одиницю часу пропорційна активності ферменту.

Клінічне значення

α-Амілаза представляє собою фермент, який бере участь в розщепленні глікогену і крохмалю. α-Амілаза утворюється головним чином екзокринно підшлунковою залозою та слинними залозами. Визначення проводиться для діагностики та контролю захворювань підшлункової залози, як гострого так і хронічного панкреатиту. Активність α-амілази також може характеризувати жовчні або шлунково-кишкові захворювання та інші порушення. Клінічний діагноз не повинен базуватися тільки на одному показникові, необхідно враховувати клінічні та інші лабораторні дані.

Склад набору

1. Реагент 1. Фосфатний буфер, 0.2 моль/л.
2. Реагент 2. Субстрат (крохмаль по Літнер).
3. Реагент 3. Розчин йоду, 0.1Н.
4. Інструкція з використання.
5. Паспорт.

Аналітичні характеристики

1. Лінійність вимірювального діапазону: 3 – 36 мг/(сек*л). Відхилення від лінійності не перевищує 5 %. Якщо отримані результати були більше, ніж межі лінійності, зразки розводять розчином NaCl 9 г/л.
2. Чутливість не менш 3 мг/(сек*л).
3. Коефіцієнт варіації результатів визначень – не більш 10%.

Матеріал для дослідження

1. Сироватка або плазма крові (рекомендується використовувати гепарин, в якості антикоагулянта). Досліджувані сироватки або плазми повинні бути ретельно відокремлені



α-АМІЛАЗА по Каравею СпЛ

від формених елементів крові не пізніше, ніж через 1 годину після взяття крові. Уникайте використання мутних, ліпідних та гемолітичних зразків.

2. Сечу для зберігання довести до рН 7.0.

3. Дуоденальний вміст.

Якщо отримані результати були більше, ніж межі лінійності, зразки розводять розчином NaCl 9 г/л. Рекомендовані розведення: сеча розводиться в 10 разів, дуоденальний вміст - в 100 разів. Отримані результати перемножують на коефіцієнт розведення.

Перелік необхідного устаткування

- Спектрофотометричне або колориметричне обладнання з довжиною хвилі 640 (600-700)нм.

- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 1 см.

- Баня водяна з термостатом з температурою 37°C.

- Загальне лабораторне обладнання.

Прим: Адаптації до напівавтоматичних і автоматичних приладів надаються за запитом

Підготовка реагентів

Перед використанням набір витримати при кімнатній температурі протягом 30 хвилин.

Приготування робочого реагенту **РР**: змішати **Р2** з **Р1** у співвідношенні 1 : 24. РР стабільний 14дб при температурі 2-8°C в непрозорому (темному) посуді.

Проведення аналізу

1. Умови вимірювання:

довжина хвилі 640 нм

кювета з товщиною оптичного шару 1 см

температура 37°C

2. Налаштувати прилад на нуль відносно дистильованої води.

3. Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрати та вносити в об'ємах, вказаних в таблиці.

	Досліджувана проба	Холоста проба
РР, мл	0.5	0.5
Інкубувати 5 хв. при 37°C у водяному термостаті. Всі слідуючі компоненти вносити у пробу в термостаті.		
Зразок, мл	0.01	--
Інкубувати 5 хв. при 37°C у водяному термостаті.		
Розчин йоду, мл	0.05	0.05
Зразок, мл	--	0.01
Вода дист., мл	4.5	4.5

Прим. Об'єми реагенту та зразку можуть бути пропорційно змінені відповідно до робочого об'єму кювети використовуваного аналізатора.

5. Виміряйте оптичну щільність (E) дослідного та холостого зразка проти дистильованої води. Забарвлення стійке 15 хв.

Розрахунок результатів

$$A_{\text{амілази, мг/(сек*л)}} = \frac{E_{\text{хол}} - E_{\text{досл}}}{E_{\text{хол}}} \times 66,6$$

E-mail: spainlab@spainlab.com.ua

Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561 (для стаціонарних телефонів)



α-АМІЛАЗА по Каравею СпЛ

$$A_{\text{амилази, г/(год*л)}} = \frac{E_{\text{хол}} - E_{\text{досл}}}{E_{\text{хол}}} \times 240, \text{ де}$$

де: $A_{\text{амилази}}$ – активність в дослідному зразку α-амилази, мг/(сек*л) або г/(год*л).

$E_{\text{хол}}$ – оптична щільність холостого зразка, одиниць оптичної щільності.

$E_{\text{досл}}$ – оптична щільність дослідного зразка, одиниць оптичної щільності.

F – 66,6 (коефіцієнт перерахунку на кількість крохмалю в міліграмах гідролізованого в пробі в 1 літрі за 1 секунду інкубації) або

– 240 (коефіцієнт перерахунку на кількість крохмалю в грамах гідролізованого в пробі в 1 літрі за 1 годину інкубації).

Референтні величини

Ґрунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Сироватка (плазма) 3,3-8,9 мг/(сек*л)
 12-32 г/(год*л)

Сеча 5,5-44,4 мг/(сек*л)
 20-160 г/(год*л)

Дуоденальний вміст 1,7-4,4 г/(сек*л)
 6-16 г/(год*мл)

Перехід в додаткові одиниці: 1 мг/(сек*л) = 3,6 г/(год*л) = 0,0036 г/(год*мл)

Контроль якості

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи наступний контрольний матеріал: контрольні сироватки «ФИЛО-НОРМ, ФИЛО-ПАТ» (Україна), «Біоконт С» (Російська Федерація). Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте апаратуру, реактиви та можливі технічні проблеми. Кожна лабораторія повинна встановити свої власні схеми контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

Примітки

1. Активність α-амилази залежить від температури. Якщо проводити дослідження при температурі <37°C або >37°C, то можна буде побачити відповідне підвищення або зниження значень.

2. Слина та піт містять α-амилазу. Уникайте піпетування реагентів ротом і контакту реагенту або використовуваного матеріалу зі шкірою.

Зберігання та стабільність

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, при зберіганні їх щільно закритими при 2-8°C, в захищеному від світла місці і уникаючи забруднення під час їх використання.

Не використовуйте реактиви після закінчення терміну придатності (1 рік).

Ознаки погіршення реагентів

- Присутність часток або помутніння.

E-mail: spainlab@spainlab.com.ua

Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561 (для стаціонарних телефонів)



α-АМІЛАЗА по Каравею СпЛ



ТОВ «СпайнЛаб»
61050, м. Харків,
вул. Франківська, 14
тел. (057) 768-07-14

Паспорт
Набір реагентів для визначення
активності альфа-амілази за методом Каравея
в сироватці, плазмі крові та сечі
«α-Амілаза по Каравею СпЛ»

IN VITRO

Серія **60-501-1**

Дата виготовлення **23.02.2017**

Термін придатності **23.02.2018**

Зберігати при 2-8°C

№/п	Показник	Вимоги ТУ У	Результати контролю
Фізико-хімічні показники			
1. Зовнішній вигляд реагентів			
1.1	P1. Фосфатний буфер	прозорий розчин	відповідає
1.2	P2. Субстрат (крохмаль по Лігнер)	прозорий розчин	відповідає
1.3	P3. Розчин йоду 0,1Н	розчин коричневого кольору	відповідає
2. рН реагентів			
2.1	P1	7,0 ± 0.2	відповідає
3. Показники правильності визначення			
3.1	Чутливість не менш, мг/(сек*л)	3	відповідає
3.2	Лінійність в діапазоні концентрацій, мг/(сек*л)	3-36 ± 5 %	відповідає
3.3	Коефіцієнт варіації	± 5 %	відповідає
4. Комплектація			
4.1	P1	1 фл. х 100 мл	відповідає
4.2	P2	1 фл. х 4 мл	відповідає
4.3	P3	1 фл. х 10 мл	відповідає

Набір розрахований на 100 визначень з урахуванням холостих проб при витраті робочого розчину відповідно цієї методики.

Термін зберігання – 1 рік з дня виготовлення.