 **АЛЬФА-АМИЛАЗА ДиаВетТест**

**Набор ветеринарных диагностических реагентов для определения активности альфа*-*амилазы в крови животных.**

Альфа-амилаза - гидролитический фермент, расщепляющий сложные углеводы до мальтозы и глюкозы. Различают амилазу слюны и панкреатическую амилазу. Однако у животных значительная часть амилазной активности обусловлена слизистой тонкого кишечника и другими внепанкреатическими источниками. У собак и кошек амилаза не выделяется с мочой, а реабсорбируется и метаболизируется в эпителии почечных канальцев. Поэтому, определение альфа-амилазы в моче у животных не проводится. Уровень амилазы у животных может повышаться более чем в 3 раза при остром панкреатите в первые 12-48 часов, а также при почечной недостаточности. Повышение уровня альфа-амилазы в сыворотке крови отмечается при панкреатитах, кистах поджелудочной железы, закупорке протока поджелудочной железы, раке поджелудочной железы, а также иногда при почечной недостаточности, отравлениях, сахарном диабете, первичном билиарном циррозе, непроходимости и заворотах ЖКТ, электролитных нарушениях. Понижение активности отмечается при некрозе поджелудочной железы (терминальные стадии), тиреотоксикозе, отравлениях мышьяком, барбитуратами, после применения антикоагулянтов.

***Показания к исследованию***

● Острый панкреатит.

● Почечная недостаточность.

*Информация для заказа*

|  |  |
| --- | --- |
| *№ набора* | *Фасовка* |
| **DV 771 001** | R1 2х68 мл + R2 2х17 мл |
| **DV 771 002** | R1 6х68 мл + R2 6х17 мл |

***Метод***

α-Амилаза катализирует реакцию гидролиза субстрата 4,6-этилиден-глюкоза7-п-нитрофенил-глюкоза1-α-D- мальтогептазида (ЭПС-Г7) 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.

***Стабильность и хранение***

Реагенты стабильны до конца месяца, указан​ного в сроке годности, при соблюдении температурного режима 2–8°С, в защищенном от света месте. Не допускать за​грязнения. Не замораживать реагенты! Допускается хранение набора при температуре до +25оС не более 5суток. Реагенты 1 и 2 после вскрытия можно хранить при температуре + 2–8оС в течение всего срока годности набора при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения. Рабочий реагент можно хранить в темном месте при температуре +2 – 8°С не более 6 месяцев или при комнатной температуре (+18–25ºС) не более месяца при условии достаточной герметичности флаконов.

***Меры предосторожности***

1.Слюна и кожа содержат альфа-амилазу, поэтому никогда не пипетировать реагенты ртом и избе­гать контакта реагента с кожей и слизистыми.

2.Обычные меры предосторожности, принимае­мые при работе с лабораторными реактивами.

***Обезвреживание отходов***

В соответствии с местными правилами.

***Подготовка животного к исследованию***

Натощак. Между последним приёмом пищи и взятием крови должно пройти не менее 8 часов (желательно - не менее 12 часов). Можно пить воду.

***Необходимые материалы, не включенные в набор***

• 0,9% раствор NaCl.

• Общее лабораторное оборудование.

***Исследуемые образцы***

Негемолизированная сыворотка крови. Сыворотку крови следует отделить от форменных элементов крови не позднее, чем через 1 час после забора крови. Гепаринизированная или ЭДТА-плазма.

***Подготовка реагентов***

Реагенты 1 и 2 готовы к использованию. Для приготовления рабочего реагента необходимо смешать в колбе конической вместимостью 200 мл 4 объема реагента 1 и один объем реагента 2. Тщательно закрыть флаконы с реагентами 1 и 2 после отбора аликвот. Оставить свежеприготовленный рабочий реагент на 20-30 мин при комнатной температуре (+18-25оС) для уравновешивания компонентов смеси.

***Проведение анализа***

Компоненты реакционной смеси отбирать в количествах, указанных в таблице. **Биреагентная схема — запуск реакции субстратом.** Перед проведением анализа рабочий реагент следует нагреть до температуры +37 ± 1,0°С в течение 5 мин.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| *Запуск реакции субстратом* | | | | *Запуск реакции образцом* |
| Отмерить, мкл | Контрольная (холостая) проба | Калибровочная проба | Сыворотка/  плазма | |  |  |  |  | | --- | --- | --- | --- | | Отмерить, мкл | Контрольная (холостая) проба | Калибровочная проба | Сыворотка/  плазма | | Образец/  /Калибратор | ⎯ | 30 | 30 | | Рабочий  реагент | 1030 | 1000 | 1000 |   Пробу и рабочий реагент перемешать. Через 2 мин измерить оптическую плотность (А1)и включить секундомер. Измерить оптическую плотность (А2) через 1, 2 и 3 мин при длине волны 405 нм, при 37°С, относительно холостой пробы, в кюветах с длиной оптического пути 1 см. |
| Образец/  Калибратор | – | 30 | 30 |
| Реагент 1 | 1000 | 1000 | 1000 |
| Перемешать, инкубировать 1 мин, затем добавить: | | | |
| Реагент 2 | 250 | 250 | 250 |
| Перемешать. Через 2 мин измерить оптическую плотность (А1) и включить секундомер. Измерить оптическую плотность (А2) через 1, 2 и 3 мин при длине волны 405 нм, при 37°С, относительно холостой пробы, в кюветах с длиной оптического пути 1 см. | | | |

Примечание. При использовании автоматических или полуавтоматических биохимических анализаторов количество реагентов и анализируемых образцов в зависимости от объема используемой кюветы может быть пропорционально изменено (соотношение сыворотки крови/плазмы к рабочему реагенту составляет 1:33 и 1:67, соответственно).

***Адаптации для Вашего анализатора запрашивайте дополнительно.***

***Интерпретация результатов исследования***

Единицы измерения в лаборатории: Ед/л.

Референсные значения: собака – 269,5-1462,4 Ед/л, кошка – 371,3-1192,6 Ед/л, крупный рогатый скот – 405,0-1337,0 Ед/л, свинья – 43,5-88,0 Ед/л.

Повышение уровня альфа-амилазы: острый панкреатит, обострение хронического панкреатита; острый гепатит; почечная недостаточность, хронические заболевания почек; тяжелые воспалительные заболевания кишечника; гепатобилиарные заболевания; перитонит; отравления.

Понижение уровня альфа-амилазы: некроз поджелудочной железы; отравление тетрахлорметаном или мышьяком; острые и токсические диспепсии.

***Контроли и калибраторы***

При работе на биохимических анализаторах рекомендуется использовать калибратор Tru­Cal U фирмы DiaSys. Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов проводите измерения контрольных сывороток TruLab N и P.

***Диапазон измерений***

Тест позволяет определять активность ами­лазы в диапазоне измерений от 5 до 2000 Ед/л. При активности α-амилазы в сыворотке крови или моче выше 2000 Ед/л анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором, повторить анализ и полученный результат умножить на разведение.

***Литература***

1.​ *Boyd J.W.* The interpretation of serum biochemistry test results in domestic animals, in Veterinary Clinical Pathology, Veterinary Practice Publishing Co., Vol. XIII, # II, 1984.

2.​ *Кондрахин И.П*. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики. – М.: 2004.

3*. Медведева М.А.* Клиническая ветеринарная лабораторная диагностика. – М.: «Аквариум Принт», 2013 – 416 с.

4.​ *Холод В.М.* Справочник по ветеринарной биохимии. – В.: 2005.

5.​ *Guder W.G., Zawta B. et al.* The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001.

6. Д. Мейер, Дж. Харви. Ветеринарная лабораторная медицина. Интерпретация и диагностика. Пер. с англ. – М. : Софион. 2007, 456 с.

***Изготовитель:*** АО «ДИАКОН-ДС»,142290, Московская область, г. Пущино, ул. Грузовая, д. 1а.