Информация для заказа

|  |  |
| --- | --- |
| *Кат. №* | *Фасовка* |
| SB 10 050 021 | R1 2х68 мл + R2 2x17 мл |
| SB 10 050 022 | R1 6х68 мл + R2 6х17 мл |

Справка [1, 2]

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 [1, 2]. 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 недостаточности. Поэтому для подтверждения острого панкреатита необходимо дополнительно проводить измерение активности липазы.

Метод

Ферментативный фотометрический тест, в кото­ром субстрат 4,6-этилиден-(G7)-п-нитрофенил-(G1)-α-D-мальтогептазид (EPS-G7) расщепляет­ся α-амилазами на различные фрагменты. Да­лее они, в свою очередь, расщепляются α-глю­козидазой с образованием глюкозы и п-нитро­фенола. Увеличение оптической плотности представляет общую (панкреатическую и слюн­ную) амилазную активность образца [3, 4].

Принцип определения

5EPS-G7 + 5H2O 

2Этилиден-G5 + 2G2PNP + 2Этилиден-G4 +

+ 2G3PNP + Этилиден-G3 + G4PNP

2G2PNP + 2G3PNP +

+ G4PNP + 14H2O  5PNP + 14G

(PNP = п-Нитрофенол, G = Глюкоза)

**Реагенты**

***Компоненты и их концентрации в реакционной смеси***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **R1:** | Good’s буфер, моль/л (pH 7.15) | 0,1 |
|  | NaCl, ммоль/л | 62,5 |
| MgCl2, ммоль/л | 12,5 |
| α-Глюкозидаза, кЕ/л | ≥2 |
| **R2:** | Good’s буфер, моль/л (pH 7.15) | 0,1 |
| EPS-G7, ммоль/л | 8,5 |

Стабильность и хранение

Реагенты стабильны до конца месяца, указан­ного в сроке годности, при хранении при 2–8°С, защищенном от света месте. Не допускать за­грязнения. Не замораживать реагенты!

Меры предосторожности

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

2. В качестве консерванта реагенты содержат азид натрия (0.95 г/л).

Не глотать! Избегать контакта реагентов с кожей и слизистыми.

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

Обезвреживание отходов

В соответствии с местными правилами.

Подготовка реагента

*Запуск реакции субстратом*

Реагенты готовы к использованию.

*Запуск реакции образцом*

Смешайте 4 части реагента 1 с одной частью реагента 2 (например, 20 мл R1 + 5 мл R2) = монореагент.

*Стабильность монореагента:*

|  |  |
| --- | --- |
| 6 месяцев | при 2–8°C |
| 4 недели | при 15–25°C |

Монореагент хранить в защищенном от света месте!

Необходимые материалы, не включенные в набор

• 0,9% раствор NaCl.

• Общее лабораторное оборудование.

Исследуемые образцы

• Сыворотка.

• Гепаринизированная или ЭДТА плазма.

• Моча.

*Стабильность в сыворотке или плазме [5]:*

|  |  |
| --- | --- |
| 7 дней | при 20–25°C |
| 7 дней | при 4–8°C |
| 1 год | при -20°C |

*Стабильность в моче [5]:*

|  |  |
| --- | --- |
| 2 дня | при 20–25°C |
| 10 дней | при 4–8°C |
| 3 недели | при -20°C |

Загрязненные образцы хранению не подлежат.

Процедура определения

*Адаптации к автоматизированным системам запрашивайте дополнительно*

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Длина волны, нм | | Hg 405 | | | | | |
| Длина опт. пути, см | | 1 | | | | | |
| Температура, °C | | 37 | | | | | |
| Измерение | | относительно холостой пробы | | | | | |
| ***Запуск реакции субстратом*** | | | | | | | |
|  | | **Холостая проба** | | **Сыворотка/плазма** | **Моча** |
| **Образец/калибр.,** мкл | | – | | 20 | 10 |
| **Реагент 1,** мкл | | 1000 | | 1000 | 1000 |
| Перемешать, инкубировать 1 мин, затем добавить: | | | | | |
| **Реагент 2,** мкл | | | 250 | 250 | 250 |
| Перемешать. Через 2 мин измерить оптическую плотность (А1) и включить секундомер. Измерить оптическую плот­ность (А2) через 1, 2 и 3 мин. | | | | | |

Запуск реакции образцом

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | **Холостая проба** | **Образец/ стандарт** | **Моча** |
| **Образец/стандарт,** мкл | – | 20 | 10 |
| **Монореагент,** мкл | 1000 | 1000 | 1000 |
| Перемешать. Через 2 мин измерить оптическую плотность (А1) и включить секундомер. Измерить оптическую плот­ность (А2) через 1, 2 и 3 мин. | | | |

Расчет

По фактору

Из значений оптической плотности вычислить ΔA/мин и умножить на соответствующий фактор из нижеследующей таблицы:

ΔA/мин х фактор = Амилазная активность [Е/л]

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| *Сыворотка/плазма* | | |
|  | Запуск субстратом | 5670 |
|  | Запуск образцом | 4554 |
| *Моча* | | |
|  | Запуск субстратом | 11250 |
|  | Запуск образцом | 9018 |

**по калибратору**

α-Амилаза [Е/л] =  х Конц. кал. [Е/л]

Калибраторы и контроли

Для калибровки автоматизированных фотомет­рических систем рекомендуется калибратор Tru­Cal U фирмы DiaSys. Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов проводите измерения контрольных сывороток TruLab N и P.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | Кат. № | Фасовка |
| TruCal U | 5 9100 60 10 060 | 1х3 мл |
| TruLab N | 5 9000 60 10 060 | 1х5 мл |
| TruLab P | 5 9050 60 10 060 | 1х5 мл |

**Рабочие характеристики**

***Диапазон измерений***

При использовании автоматических анализаторов тест позволяет определять активность амилазы в диапазоне измерений до 2000 Е/л.

В ручном режиме измерений тест применяется для определения активности амилазы, соответствующей изменению опти­ческой плотности не более ΔA/мин = 0.35. Если значение превосходит верхнюю границу диапа­зона, образец должен быть разведен 1 + 9 изотоническим раствором NaCl (9 г/л), и получен­ный результат должен быть умножен на 10.

Специфичность/Помехоустойчивость

аскорбиновая к-та до 30 мг/дл, билирубин до 40 мг/дл и липемия до 1000 мг/дл триглицеридов не влияют на точность анализа. Гемогло­бин, даже при низких концентрациях, мешает определению.

Чувствительность/Пределы определения

Нижний предел определения 3 Е/л.

***Воспроизводимость***

(число измерений n = 20)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Образец | Среднеарифметическое значение, Е/л | SD, Е/л | CV, % |
| *Внутрисерийная* | | | |
| Образец 1 | 184 | 2,00 | 1,08 |
| Образец 2 | 398 | 2,67 | 0,67 |
| Образец 3 | 841 | 4,96 | 0,59 |
| *Межсерийная* | | | |
| Образец 1 | 180 | 1,82 | 1,01 |
| Образец 2 | 383 | 3,74 | 0,97 |
| Образец 3 | 817 | 7,48 | 0,92 |

*Нормальные величины* [6]

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | Женщины | Мужчины |
| Сыворотка/плазма, Е/л | < 100 | < 100 |
| Моча, Е/л | < 447 | < 491 |

**Литература**

1. *Lorentz K.* α-Amylase. In: Thomas L, editor. Clinical laboratory diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p.192-202.

2. *Moss DW, Henderson AR.* Digestive enzymes of pancreatic origin. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Compa­ny; 1999. p.689-698.

3. *Kruse-Jarres JD, Kaiser C, Hafkenscheid JC, Hohenwallner W, Stein W., Bohner J* et al. Evaluation of a new alpha-amylase assay using 4,6-ethylidene-(G7)-1-4-nitrophenyl-(G1)-alpha,D-maltoheptaoside as substrate. J Clin Chem Biochem 1989; 27: 103-113.

4. *Schumann G, Aoki R, Ferrero CA et al.* IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Clin Chem Lab Med 2006; 44(9): 1146-1155.

*5. Guder WG, Zawta* B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 16-7, 50-1.

6. *Junge W, Wortmann W, Wilke B, Waldenstroem J et al.* Development and evaluation of assays for determination of total and pancreatic amy­lase at 37°C according to the principle recommended by the IFCC. Clin Biochem 2001; 34: 607-15.

**Разрешено к обращению на территории Российской Федерации РУ № ФСР 2011/11406**

**Система менеджмента качества сертифицирована на соответствие требованиям: ISO 9001:2008, EN ISO 13485:2012, ГОСТ ISO 9001-2011, ГОСТ ISO 13485-2011**

 **Допущено к обращению на территории Европейского Союза**

**Авторизованный представитель ЗАО «ДИАКОН-ДС» в ЕС**

CE-partner4U

ESDOORNLAAN 13, 3951DB MAARN, THE NETHERLANDS

**Изготовитель**

ЗАО «ДИАКОН-ДС»

142290, Московская область, г. Пущино, ул. Грузовая, д. 1а.

**По лицензии**

«DiaSys Diagnostic Systems GmbH», Alte Strasse 9, 65558 Holzheim, Germany. Alte Strasse 9, 65558 Holzheim, Germany.