

Liquick Cor-AMYLASE EPS



ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ НАБОР ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ α -АМИЛАЗЫ

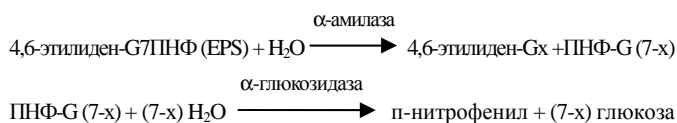
Название набора	Кат. №
Liquick Cor-AMYLASE EPS mini	2-331
Liquick Cor-AMYLASE EPS 30	2-332
Liquick Cor-AMYLASE EPS 60	2-333
Liquick Cor-AMYLASE EPS 120	2-334

ВВЕДЕНИЕ

α -Амилазы – это гидролитические ферменты, которые осуществляют гидролиз α -1 \rightarrow 4 гликозидных связей крахмала и подобных полисахаридов до мальтозы и других олигосахаридов. Различают разные типы амилаз человека в зависимости от органа, в котором продуцируются ферменты. Чаще всего определение α -амилазы показано при диагностике острого панкреатита, при котором активность α -амилазы в сыворотке необычайно высока. Возрастанию активности α -амилазы в сыворотке сопутствует значительное повышение выделения энзима с мочей, более длительное, чем всплеск активности в крови. Поэтому определение α -амилазы в моче используется в качестве индикатора острого панкреатита. Гиперамилаземия встречается также при хроническом панкреатите, почечной и легочной недостаточностях, заболеваниях слюнных желез, мозговых травмах, при хирургических вмешательствах и макроамилаземии. Для подтверждения панкреатита рекомендуется также произвести исследование прочих специфических ферментов поджелудочной железы – напр., липазы.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Энзиматический колориметрический метод, с субстратом EPS, основанный на рекомендациях Международной Федерации Клинической Химии (модифицированный метод IFCC). α -Амилаза катализирует гидролиз 4,6-этилиден(G7)-п-нитрофенил(G1)- α ,D-мальтогептозида (EPS, Ethylidene Protected Substrate: 4,6-этилиден-G7ПНФ; ПНФ – п-нитрофенил, G – глюкоза). Этилиденная группа предохраняет субстрат от распада в результате воздействия экзоферментов, поэтому в случае отсутствия α -амилазы в пробе не наблюдается роста абсорбции. α -Амилаза гидролизует субстрат на меньшие фрагменты, из которых впоследствии, под воздействием фермента α -глюкозидазы освобождается хромофор п-нитрофенил и глюкоза.



Рост абсорбции при освобождении п-нитрофенила прямо пропорционален активности α -амилазы в исследуемом образце и измеряется спектрофотометрически при длине волны 405 нм.

РЕАГЕНТЫ

Состав набора

	Liquick Cor-AMYLASE EPS mini	Liquick Cor-AMYLASE EPS 30	Liquick Cor-AMYLASE EPS 60	Liquick Cor-AMYLASE EPS 120
1-AMYLASE EPS	2 x 24 мл	5 x 24 мл	5 x 48 мл	5 x 96 мл
2-AMYLASE EPS	1 x 12 мл	1 x 30 мл	1 x 60 мл	1 x 120 мл

При температуре 2-8°C, реагенты сохраняют стабильность в течении всего срока годности, указанного на упаковке. Реагенты на борту анализатора при температуре 2-10°C стабильны 12 недель. Предохранять от попадания микрофлоры, а также амилазы, содержащейся в слюне и поте. Предохранять от прямого света. Реактивы должны сохранять прозрачность, не использовать в случае помутнения.

Приготовление и стабильность рабочего реагента

Определение может быть выполнено как с отдельным использованием реагентов 1-AMYLASE EPS и 2-AMYLASE EPS, так и с использованием рабочего реагента.

Для приготовления рабочего реагента следует аккуратно смешать **4 части** 1-AMYLASE EPS с **1 частью** 2-AMYLASE EPS. Избегать пенообразования.

Стабильность рабочего реагента: 4 недели при 2-8°C
5 дней при 18-25°C

Предохранять от попадания микрофлоры, а также амилазы, содержащейся в слюне и поте. Предохранять от прямого света.

Концентрации компонентов в реагентах

буфер HEPPES, pH 7,2	52,5 ммоль/л
хлорид натрия	87 ммоль/л
хлорид магния	12,6 ммоль/л
хлорид кальция	0,075 ммоль/л
α -глюкозидаза	≥ 4 кЕд/л
4,6-этилиден-G7ПНФ (EPS)	> 4 ммоль/л
стабилизаторы и консерванты	

Предостережения и примечания

- Использовать только для диагностики in vitro.
- Допустим желтоватый оттенок 2-AMYLASE EPS, который не влияет на результаты определений.

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

- автоматический анализатор либо фотометр, позволяющий снимать показания на длине волны 405 нм;
- термостат на 37°C;
- общее лабораторное оборудование;

БИОЛОГИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ

Сыворотка или плазма крови собранной на гепарин, без следов гемолиза, моча.

Не использовать антикоагулянты: ЭДТА, солей лимонной и щавелевой кислоты, так как они ингибируют активность амилазы.

Эритроциты следует максимально быстро отделить от сыворотки.

Сыворотка / плазма могут храниться 7 дней при темп. 20-25°C либо месяц при темп. 4°C.

Моча может храниться 2 дня при темп. 20-25°C либо 10 дней при темп. 4-8°C. Амилаза крайне нестабильна в моче с кислым pH. Перед хранением следует повысить pH до щелочного.

Тем не менее, рекомендуется производить исследования на свежем взятом биологическом материале!

ПРОЦЕДУРА ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Набор предназначен как для мануального определения, так и для использования в некоторых типах автоматических анализаторов. Адаптации для них предоставляются сервисной службой по запросу.

Мануальное определение

длина волны	405 нм
температура	37°C
кювета	1 см

Метод Sample Start

В кювету поместить:

	бланк по реагенту (БР)	образец исследуемый (ОИ)	образец стандартный (ОС)
рабочий реагент	1000 мкл	1000 мкл	1000 мкл

Подогреть до температуры определения. Затем добавить:

калибратор	-	-	20 мкл
исследуемый материал	-	20 мкл	-
дистиллированная вода	20 мкл	-	-

Хорошо перемешать, и после 2 минут инкубации при температуре определения измерить коэффициент поглощения, повторить измерения после следующих 1, 2 и 3 минут.

Вычислить значение изменения абсорбции в минуту для исследуемого А(ОИ) и стандартного А(ОС) образцов:

$$\Delta A/\text{мин (ОИ)} = [\Delta A/\text{мин (ОИ)}] - [\Delta A/\text{мин (БР)}]$$

$$\Delta A/\text{мин (ОС)} = [\Delta A/\text{мин (ОС)}] - [\Delta A/\text{мин (БР)}]$$

Расчет результатов

активность амилазы $[\text{Ед/л}] = \frac{\Delta A/\text{мин (ОИ)}}{\Delta A/\text{мин (ОС)}} \times \text{концент. калибратора} [\text{Ед/л}]$

Метод Reagent Start

В кювету поместить:

	бланк по реагенту (БР)	образец исследуемый (ОИ)	образец стандартный (ОС)
1-AMYLASE EPS	1000 мкл	1000 мкл	1000 мкл

Подогреть до температуры определения. Затем добавить:

калибратор	-	-	30 мкл
исследуемый материал	-	30 мкл	-
дистиллированная вода	30 мкл	-	-

Хорошо перемешать и через 1 мин. инкубации добавить:

2-AMYLASE EPS	250 мкл	250 мкл	250 мкл
---------------	---------	---------	---------

Хорошо перемешать, и после 2 минут инкубации при температуре определения измерить коэффициент поглощения, повторить измерения после следующих 1, 2 и 3 минут.

Вычислить значение изменения абсорбции в минуту для исследуемого А(ОИ) и стандартного А(ОС) образцов:

$$\Delta A/\text{мин (ОИ)} = [\Delta A/\text{мин (ОИ)}] - [\Delta A/\text{мин (БР)}]$$

$$\Delta A/\text{мин (ОС)} = [\Delta A/\text{мин (ОС)}] - [\Delta A/\text{мин (БР)}]$$

Расчет результатов

активность амилазы $[\text{Ед/л}] = \frac{\Delta A/\text{мин (ОИ)}}{\Delta A/\text{мин (ОС)}} \times \text{концент. калибратора} [\text{Ед/л}]$

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ⁵

сыворотка/плазма	28 – 100 Ед/л	0,47 – 1,7 мккат/л
моча	≤ 460 Ед/л	≤ 7,7 мккат/л

Каждой лаборатории рекомендуется разработать собственные нормы, характерные для обследуемого контингента.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для внутреннего контроля качества рекомендуется использовать контрольные сыворотки CORMAY SERUM HN (Кат. № 5-172) и CORMAY SERUM HP (Кат. № 5-173) при исследовании сыворотки, либо CORMAY URINE CONTROL LEVEL 1 (Кат. № 5-161) и LEVEL 2 (Кат. № 5-162) при исследованиях мочи, для каждой серии измерений.

Для калибровки рекомендуется использовать калибраторы CORMAY MULTICALIBRATOR LEVEL 1 (Кат. № 5-174; 5-176) или LEVEL 2 (Кат. № 5-175; 5-177).

Калибровку рекомендуется проводить каждые 12 недель, при каждой смене лота реагентов и в случае необходимости, напр. если результаты определения контрольных сывороток не попадают в референтный диапазон.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Эти метрологические характеристики были получены при использовании автоматического анализатора Biolis 24i Premium. Результаты, полученные на других анализаторах и вручную, могут отличаться.

- **Чувствительность:** 1,1 Ед/л (0,018 мккат/л).

- **Линейность:** 2000 Ед/л (33,3 мккат/л).

Если активность амилазы в исследуемом образце превышает 2000 Ед/л, пробу следует развести в соотношении 1:10 0,9% NaCl и повторить определение. Результат определений умножить на коэффициент разведения.

- **Специфичность / интерференции**

Гемоглобин до 0,156 г/дл, билирубин до 20 мг/дл, аскорбиновая кислота до 62 мг/л, триглицериды до 1250 мг/дл и глюкоза до 2000 мг/дл не влияют на результаты определений.

- **Точность**

Повторяемость (между сериями) n = 20	Среднее [Ед/л]	SD [Ед/л]	CV [%]
уровень 1	71,9	0,76	1,05
уровень 2	384,2	1,58	0,41

Воспроизводимость (изо дня в день) n = 80	Среднее [Ед/л]	SD [Ед/л]	CV [%]
уровень 1	71,3	0,98	1,37
уровень 2	391,6	3,00	0,77

- **Сравнение метода**

Сравнение результатов определения активности амилазы, произведенных на анализаторах Biolis 24i Premium (y) и ADVIA 1650 (x) для 66 образцов дало следующие результаты:

$$y = 1,0273 x - 2,8482 \text{ Ед/л;}$$

$$R = 0,9999$$

(R – коэффициент корреляции)

УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

В соответствии с локальными требованиями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Pesce, A.J., Kaplan, L.A.: "Methods in Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1987).
2. Burtis C.A., Ashwood E.R.: "Tietz Textbook of Clinical Chemistry", W.B. Saunders Company Ed. (3rd edition, 1999).
3. Lorentz K. Approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 9. IFCC method for alpha-amylase (1,4-alpha-D-glucan 4-glucanohydrolase, EC 3.2.1.1). International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC). Committee on Enzymes. Clin Chem Lab Med. 1998 Mar;36(3):185-203.
4. Junge W, Wortmann W, Wilke B, Waldenström J, Kurrle-Weittenhiller A, Finke J, Klein G. Development and evaluation of assays for the determination of total and pancreatic amylase at 37 degrees C according to the principle recommended by the IFCC. Clin Biochem. 2001 May;34:607-15.
5. Junge W, Waldenström J, Bouman A et al. Evaluation of the Assays for Total and Pancreatic α -Amylase based on 100% Cleavage of Et-G7-PNP at 6 European Clinical Centres (Poster Medlab 97). Basel, Switzerland: 12th IFCC European Congress of Clinical Chemistry, August 17-22, 1997.
6. Alan H.B. Wu: Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests, 4th ed. WB Saunders, 100-104, (2006).
7. Hohenwallner W, Hagele EO, Scholer A et al. Ber Oster Ges Klin Chem 1983;6:101-112.

Дата создания: 07. 2012.

ПРОИЗВОДИТЕЛЬ

PZ CORMAY S.A.

Ул. Вёсэнна 22,
05-092 Ломянки, ПОЛЬША
тел.: +48 (0) 22 751 79 10
Факс: +48 (0) 22 751 79 14
<http://www.cormay.pl>