

АМІЛАЗА EPS 500

Liquick Cor-AMYLASE EPS 500

Кат. №: 2-335

Дата випуску інструкції: 07-2012



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

Назва набору

Liquick Cor-AMYLASE EPS 500
Liquick Cor-AMYLASE EPS "bulk"

Номер кат.

2-335
2-336

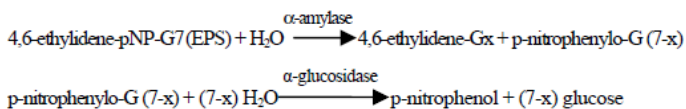
ВСТУП

α -амілази є гідролітичними ферментами, які гідролізують 1,4- α -глюкозидний зв'язок в крохмалі і інших подібних полісахаридах до мальтози і інших олігосахаридів. Кілька типів амілази можна виділити, в залежності від органу, з якого вони походять. α -амілаза найбільш часто вимірюється в діагностиці гострого панкреатиту, коли його активність в сироватці дуже висока. Підвищення активності амілази в сироватці крові також супроводжується збільшенням екскреції ферменту в сечі, який може тривати довше, ніж в крові. Через цю активність в α -амілазі в сечі використовується як індикатор гострого панкреатиту. Нурегамулаземія відбувається також при хронічному панкреатиті, захворюванні нирок, легенів, захворюваннях слинних залоз, церебральних травм, хірургічних втручань і масоамулаземія. Для підтвердження панкреатичної специфічності рекомендується також визначити інший специфічний фермент підшлункової залози, такий як ліпаза.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Ферментативний колориметричний метод з підкладкою EPS, відповідно до рекомендації IFCC - Міжнародної федерації клінічної хімії та лабораторної медицини (модифікований метод IFCC).

α -Амілаза каталізує гідроліз субстрату 4,6-ethylidene-(G7)-p-nitrophenyl-(G1)- α ,D-maltoheptaoside (EPS, Етіліден Захищений Субстрат). Етілідна група запобігає руйнування субстрату через екзо-ферментну активність, тому у відсутності α -амілази не спостерігається збільшення оптичної щільності. α -амілаза гідролізує субстрат на більш дрібні фрагменти, які при дії на них α -глюкозидази, приводять в кінцевому підсумку до вивільнення хромофору p-нітрофенолу (pNP) і глюкози.



Збільшення оптичної щільності, пов'язаної з утворенням p-нітрофенолу, пропорційне активності α -амілази у зразку і вимірюється спектрофотометрично при довжині хвилі 405 нм.

РЕАГЕНТИ

Склад набору

	Liquick COR-AMYLASE EPS 500	Liquick COR-AMYLASE EPS "bulk"
1-AMYLASE EPS	3 x 400 мл	--*
2-AMYLASE EPS	1 x 300 мл	--*

*об'єм реагенту зазначений на упаковці

Реагенти при температурі 2-8 °C зберігають стабільність протягом усього терміну придатності, зазначеного на упаковці. Стабільність реагентів на борту аналізатора становить 12 тижнів при температурі 2-10 °C. Запобігати мікробіологічного забруднення реагентів і забруднення α -амілазою слини і поту. Захищати від прямих сонячних променів. Реагенти повинні бути прозорими, не слід їх використовувати, якщо вони каламутні.

Підготовка і стабільність Робочого реагенту

Аналіз може бути виконаний з використанням окремих реагентів 1-AMYLASE EPS і 2-AMYLASE EPS або з використанням робочого реагенту. Для приготування робочого реагенту акуратно перемішати 4 частини 1-AMYLASE EPS з 1 частиною 2-AMYLASE EPS. Уникнути спінювання.

Стабільність робочого реагенту: 4 тижні при 2-8 °C

5 днів при 18-25 °C

Запобігати мікробіологічного забруднення реагентів і забруднення α -амілазою слини і поту. Захищати від прямих сонячних променів.

Концентрації компонентів в аналізі

HEPES-буфер, pH 7,2,	52.5 ммоль/л
хлорид натрію	87 ммоль/л
хлорид магнію	12.6 ммоль/л
хлорид кальцію	0.075 ммоль/л
α -Глюкозидаза	≥ 4 кОд/л
4,6-етиліден G7pNP (EPS)	> 4 ммоль/л
стабілізатори та консерванти	

Попередження і примітки

- Використовувати тільки для діагностики in-vitro.
- Злегка жовте забарвлення 2-AMYLASE EPS не впливає на продуктивність реагенту.

ДОДАТКОВЕ УСТАТКУВАННЯ

- автоматичний аналізатор або фотометр, що дозволяє знімати покази при довжині хвилі 405 нм;
- термостат на 37 °C;
- загальне лабораторне устаткування.

БІОЛОГІЧНИЙ МАТЕРІАЛ

Сироватка або плазма, зібрана на гепарин, без слідів гемолізу, сеча. Не використовуйте антикоагулянти: ЕДТА, цитрати і оксалати, так як вони пригнічують активність амілази. Сироватка/плазма можуть зберігатися протягом 7 днів при 20-25 °C або протягом одного місяця при 4 °C. Сеча може зберігатися протягом 2-х днів при 20-25 °C або протягом 10 днів при 4-8 °C. Амілаза є дуже нестабільною в кислій сечі. Регулювати pH до лужного діапазону перед зберіганням. Проте, рекомендується виконати аналіз з свіжозібраних зразків!

ПРОЦЕДУРА ВИЗНАЧЕННЯ

Набір призначений як для мануального визначення (методи Зразок Старт та Реагент Старт), так і для використання в деяких типах автоматичних аналізаторів. Установки параметрів для них надаються сервісною службою за запитом.

Визначення мануальне

довжина хвилі	405 нм
температура	37 °C
кювета	1 см

Метод Зразок Старт

У кювету помістити:

	Бланк (B)	Зразок досліджуваний (T)	Калібратор (C)
Робочий реагент	1000 мкл	1000 мкл	1000 мкл
Підігріти до температури визначення. Потім додати:			
Калібратор	-	-	20 мкл
Зразок	-	20 мкл	-
Дист. вода	20 мкл	-	-

Добре перемішати і через 2 хвилини інкубації при адекватній температурі (37 °C) зчитати абсорбцію, повторити вимір після наступної 1, 2 і 3 хвилини.

Обчислити середнє зміни коефіцієнта поглинання за хвилину досліджуваного зразка (T) і калібратора (C):

$$\begin{aligned} \Delta A/\text{хв. (T)} &= [\Delta A/\text{хв. (T)}] - [\Delta A/\text{хв. (B)}] \\ \Delta A/\text{хв. (C)} &= [\Delta A/\text{хв. (C)}] - [\Delta A/\text{хв. (B)}] \end{aligned}$$

Розрахунок результатів

Активність амілази [Од/л] = $\Delta A/\text{хв. (T)} / \Delta A/\text{хв. (C)}$ x концентрація калібратора [Од/л]

Метод Реагент Старт

У кювету помістити:

	Бланк (В)	Зразок досліджуваний (Т)	Калібратор (С)
1-AMYLASE EPS	1000 мкл	1000 мкл	1000 мкл

Підігріти до температури визначення. Потім додати:

Калібратор	-	-	30 мкл
Зразок	-	30 мкл	-
Дист. вода	30 мкл	-	-

Добре перемішати і через 1 хв. інкубації додати:

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

Добре перемішати і через 2 хвилини інкубації при адекватній температурі (37 °С) зчитати абсорбцію, повторити вимір після наступної 1, 2 і 3 хвилини.

Обчислити середнє зміни коефіцієнта поглинання за хвилину досліджуваного зразка (Т) і калібратора (С):

$$\Delta A/\text{хв. (Т)} = [\Delta A/\text{хв. (Т)}] - [\Delta A/\text{хв. (В)}]$$

$$\Delta A/\text{хв. (С)} = [\Delta A/\text{хв. (С)}] - [\Delta A/\text{хв. (В)}]$$

Розрахунок результатів

Активність амілази [Од/л] = $\Delta A/\text{хв. (Т)} / \Delta A/\text{хв. (С)}$ x концентрація калібратора [Од/л]

РЕФЕРЕНСНІ ВЕЛИЧИНИ

serum / plasma	28 – 100 U/l	0.47 – 1.7 $\mu\text{kat/l}$
urine	≤ 460 U/l	≤ 7.7 $\mu\text{kat/l}$

Кожній лабораторії рекомендується встановити свої власні норми, характерні для обстежуваного контингенту.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для внутрішнього контролю якості рекомендується використовувати CORMAY SERUM HN (Кат. № 5-172) і CORMAY SERUM HP (Кат. № 5-173) для визначення в сироватці або CORMAY URINE КОНТРОЛЬ РІВЕНЬ 1 (Кат. № 5-161) і РІВЕНЬ 2 (Кат. № 5-162) для визначення в сечі з кожною серією зразків.

Для калібрування систем автоматичних аналізаторів рекомендується CORMAY MULTICALIBRATOR РІВЕНЬ 1 (Кат. № 5-174, 5-176) або РІВЕНЬ 2 (Кат. № 5-175, 5-177).

Калібрувальну криву слід готувати кожні 12 тижнів, зі зміною номера партії реагенту або в міру необхідності, наприклад, результати контролю якості за межами зазначеного діапазону.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИЗНАЧЕННЯ

Ці метрологічні характеристики були отримані за допомогою автоматичного аналізатора Biolis 24i Premium. У випадку проведення аналізу на іншому аналізаторі або вручну отримані результати можуть відрізнятися.

- **Чутливість:** 1.1 Од/л (0.018 мккат/л).
- **Лінійність:** до 2000 Од/л (33.3 мккат/л).
Якщо активність амілази перевищує 2000 Од/л, розбавити зразок 0,9% NaCl 1:10 і повторити аналіз. Результат помножити на коефіцієнт розведення.
- **Специфічність/Інтерференція**
Гемоглобін до 0.156 г/дл, білірубін до 20 мг/дл, аскорбат до 62 мг/л, тригліцериди до 1250 мг/дл і глюкоза і до 2000 мг/дл не роблять впливу на результати вимірювань.

Точність

Повторюваність (між серіями) n = 20	Середня [Од/л]	SD [Од/л]	CV [%]
Рівень 1	71.9	0.76	1.05
Рівень 2	384.2	1.58	0.41

Відтворюваність (між днями) n = 20	Середня [Од/л]	SD [Од/л]	CV [%]
Рівень 1	71.3	0.98	1.37
Рівень 2	391.6	3.00	0.77

Порівняння методів

Порівняння між значеннями амілази, що визначались на Biolis 24i Premium (y), і на ADVIA 1650 (x) з використанням 66 зразків дало наступні результати:

$$y = 1.0273 x - 2.8482 \text{ Од/л};$$

$$R = 0.9999$$

(R - коефіцієнт кореляції)

УТИЛІЗАЦІЯ ВІДХОДІВ

Відповідно до локальних вимог.



ВИРОБНИК

ПЗ КОРМЕЙ С.А.
вул. Віосенна, 22
05-092 м. Ломянки, Польща
тел.: +48 (0) 81 749 44 00
факс: +48 (0) 81 749 44 34
<http://www.cormay.pl>



УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ»
вул. Чорновола, 97
м. Івано-Франківськ, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.ua

