

Код 11583 5 x 5 мл	Код 11550 6 x 25 мл
Хранить при 2-8°C	
Реагенты для измерения концентрации α-амилазы. Использовать только для работы «in vitro» в клинической лаборатории	

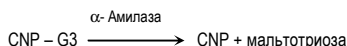
α-AMYLASE-DIRECT



α-АМИЛАЗА-прямая
DIRECT SUBSTRATE

ПРИНЦИП МЕТОДА

α-Амилаза катализирует гидролиз 2-хлор-4-нитрофенил-мальтоотриоза (CNP-G3) в 2-хлор-4-нитрофенол (CNP). Активность фермента определяется по скорости образования 2-хлор-4-нитрофенола, оптическая плотность которого измеряется при 405 нм^{1,2,3}.



НАБОРЫ

	Код 11583	Код 11550
A. Реагент	5 x 5 мл	6 x 25 мл

СОСТАВ

A. Реагент. MES 50 ммоль/л, хлорид кальция 5 ммоль/л, хлорид натрия 300 ммоль/л, натрий тиоцианат 450 ммоль/л, CNP-G3 2.25 ммоль/л, pH 6.1

ХРАНЕНИЕ

Хранить при 2-8°C.

Реагенты и стандарт стабильны до окончания срока годности, указанного на этикетке, при хранении в плотно закрытом сосуде и предотвращении загрязнения во время использования.

Признаки загрязнения:

– Реагенты: присутствие взвешенных частиц, мутность, абсорбция бланка выше 0.500 при 405 нм (1 см кювета).

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТА

Реагент (A) поставляется готовым к использованию.

НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

– Анализатор, спектрофотометр или фотометр с термостатируемой измерительной кюветой на 25, 30 или 37°C с фильтром 405 нм
– Кюветы с длиной оптического пути 1 см

ОБРАЗЦЫ

Сыворотка, плазма или моча, полученные с помощью стандартных процедур.

α-Амилаза стабильна в сыворотке или плазме в течении 1 месяца при 2-8°C. Используйте гепарин в качестве антикоагулянта.

α-Амилаза стабильна в моче в течении 1 месяца при 2-8°C, если предварительно довести pH до 7.

ПРОЦЕДУРА

1. Нагреть Рабочий Реагент и измерительную ячейку фотометра до температуры реакции.
2. Внести в кювету (прим. 1, 2):

	Сыворотка или плазма		Моча	
	37°C	25°C, 30°C	37°C	25°C, 30°C
Реагент (A)	1.0 мл	1.0 мл	1.0 мл	1.0 мл
Образец	20 мкл	50 мкл	10 мкл	20 мкл

3. Перемешать и поместить кювету в измерительную ячейку фотометра. Начать отсчет времени.
4. Измерьте абсорбцию с интервалом в 1 минуту в течение 3 минут.
5. Рассчитайте разницу между последовательными измерениями абсорбции, и среднюю оптическую разницу за минуту (ΔA/мин).

РАСЧЕТ

Концентрация α-амилазы в образце вычисляется по следующей формуле:

$$\Delta A/\text{мин} \times \frac{Vt \times 10^6}{\epsilon \times l \times V_s} = \text{Ед/л}$$

Коэффициент молярной абсорбции (ε) CNP при 405 нм составляет 15490, оптический путь (l) составляет 1 см. Для сыворотки и плазмы общий реакционный объем (Vt) равен 1.02 для 37°C и 1.05 для 25-30°C, объем образца (Vs) равен 0.02 37°C и 0.05 для 25-30°C. Для мочи общий реакционный объем (Vt) равен 1.01 для 37°C и 1.02 для 25-30°C, объем образца (Vs) равен 0.01 37°C и 0.02 для 25-30°C. 1Ед/л равен 0.0166 мккат/л. Для расчета активности фермента используйте следующие факторы:

ΔA/мин	Сыворотка, плазма	37°C	25-30°C
		$\times 3292 = \text{Ед/л}$ $\times 54.9 = \text{мккат/л}$	$\times 1355 = \text{Ед/л}$ $\times 22.6 = \text{мккат/л}$
Моча	$\times 6520 = \text{Ед/л}$ $\times 108.7 = \text{мккат/л}$	$\times 3292 = \text{Ед/л}$ $\times 54.9 = \text{мккат/л}$	

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Температура реакции	Сыворотка, плазма		Моча	
	Ед/л	мккат/л	Ед/л	мккат/л
25°C	12-45	0.21-0.75	< 180	< 3.00
30°C	17-60	0.28-1.00	< 240	< 4.00
37°C ^{4,5}	22-80	0.37-1.33	< 321	< 5.35

Величины для 25°C и 30°C получены с помощью величин для 37°C с использованием фактора перевода.

Данные величины ориентировочны, каждая лаборатория должна устанавливать свои диапазоны нормальных значений.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуется использовать контрольную биохимическую сыворотку уровня I (код 18005, 18009 и 18042), уровня II (код 18007, 18010 и 18043) и Orina Control de Bioquímica (код 18054) чтобы подтвердить эффективность процедуры измерения.

Для каждой лаборатории должна быть разработана собственная схема контроля качества и процедуры по корректировке, если контрольные материалы выходят за пределы допустимых отклонений.

МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- Предел обнаружения: 1.8 Ед/л = 0.03 мккат/л.
- Предел линейности: 1317 Ед/л = 22 мккат/л (сыворотка и плазма) и 2600 Ед/л = 43.5 мккат/л (моча). Для более высоких значений следует развести образец дистиллированной водой 1/5 и повторить измерение.
- Сходимость (внутри серии):

Средняя концентрация	CV	n
64 Ед/л=1.07 мккат/л	1.8%	20
338 Ед/л=5.63 мккат/л	0.5%	20

- Воспроизводимость (между сериями):

Средняя концентрация	CV	n
64 Ед/л = 1.07 мккат/л	3.5%	25
338 Ед/л = 5.63 мккат/л	1.0%	25

- Чувствительность: 0.304 Δ мА•л/Ед•мин = 18.2 Δ мА•л/мккат•мин.
- Достоверность: Результаты, полученные с данными реагентами не показывали значительных отличий при сравнении с результатами, полученными с другими реагентами. Детали сравнительных экспериментов доступны по требованию.
- Интерференция: Липемические образцы (триглицериды 10 г/л) и билирубин (20 мг/дл) не влияют на результаты. Гемоглобин (2.5 г/л) влияет на результаты. Некоторые вещества и лекарства могут исказить результат⁵.

Данные метрологические характеристики были получены при использовании анализатора, при использовании другого оборудования или ручных методов результаты могут варьировать.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

α-Амилаза катализирует гидролиз α-1,4-связей углеводов, состоящих из единиц α-D-глюкозы. Результатом является образование декстранов, мальтозы и нескольких молекул глюкозы. α-Амилаза продуцируется главным образом поджелудочной железой (P-тип) и слюнными железами (S-тип), но найдена также и в других тканях.

Анализ активности в сыворотке и моче широко используются в диагностике заболеваний поджелудочной железы, таких как острый и хронический панкреатит. Гиперамилаземия может также быть вызвана почечной недостаточностью, острой абдоминальной болью, опухолями легких и яичников, поражениями слюнных желез, макроамилаземией, диабетическим кетоацидозом, болезнью желчных путей, церебральной травмой, хроническим алкоголизмом и лекарствами (опиатами)^{6,7}.

Клинический диагноз не должен основываться на результатах отдельного теста, он должен согласовываться с результатами клинических и лабораторных данных.

ПРИМЕЧАНИЯ

1. Слюна и кожа содержит α-Амилазу. Не насаживайте растворы ртом, нельзя допускать контакта кожи с реагентами.
2. Данные реагенты могут использоваться в различных автоматических анализаторах. Инструкции доступны по требованию.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Lorentz K, Gütschow B, Renner F. Evaluation of a direct alpha-amylase assay using 2-chloro-4-nitrophenyl-alpha-D-maltotriose. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37: 1053-1062.
2. Gella FJ, Gubern G, Vidal R, Canalias F. Determination of total and pancreatic α-amylase in human serum with 2-chloro-4-nitrophenyl-α-D-maltotriose as substrate. *Clin Chim Acta* 1997; 259: 147-160.
3. Gubern G, Balsells D, Ferragut R, Galán A, Gella FJ, et al. Procedimiento recomendado para la determinación in rutina de la concentración catalítica de α-amilasa en suero sanguíneo humano. *Quim Clin* 1996; 15: 51-52.
4. Balsells D, Gella FJ, Gubern G, Canalias F. Reference values for α-amylase in human serum and urine using 2-chloro-4-nitrophenyl-α-D-maltotriose as substrate. *Clin Chim Acta* 1998; 274: 213-217.
5. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
6. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
7. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.