

Код 11799 1x 25 мл
Хранить при 2-8°C
Реагенты для измерения концентрации панкреатической $\alpha$ -амилазы Только для использования <i>in vitro</i> в клинической лаборатории



### ПРИНЦИП МЕТОДА

$\alpha$ -амилаза катализирует гидролиз 4-нитрофенил-мальтогептаозид-этилидена с образованием олигосахаридов, которые под действием  $\alpha$ -глюкозидазы гидролизуются с высвобождением 4-нитрофенола. Каталитическая концентрация определяется по скорости образования 4-нитрофенола, измеренная при 405 нм<sup>1,2</sup>. Специфические антитела ингибируют изоферменты слюнной  $\alpha$ -амилазы, что позволяет произвести измерение активности панкреатической амилазы<sup>3</sup>.

### СОДЕРЖАНИЕ И СОСТАВ

- A. Реагент: 1 x 20 мл. HEPES 50 ммоль/л, кальция хлорид 0.075 ммоль/л, натрия хлорид 90 ммоль/л, магния хлорид 13 ммоль/л,  $\alpha$ -глюкозидаза > 4 Е/мл, антитела моноклональные (мышь) 50 мг/л, рН 7.1.  
B. Реагент: 1 x 5 мл. HEPES 50 ммоль/л, 4-нитрофенил-мальтогептаозид-этилиден 18 ммоль/л, рН 7.1.

### 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 0.300 при 405 нм (1 см кювета).

### ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Реагенты готовы к использованию.

### НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

- Анализатор, спектрофотометр или фотометр с термостатируемой кюветой при 37°C для снятия показаний при 405 нм.
- Кюветы с длиной оптического пути 1 см.

### ОБРАЗЦЫ

Сыворотка, плазма и моча, забранные при помощи стандартных методов.

Панкреатическая  $\alpha$ -амилаза в сыворотке или плазме стабильна в течение 1 месяца при температуре 2-8°C. В качестве антикоагулянта использовать гепарин или ЭДТА.

Панкреатическая  $\alpha$ -амилаза в моче стабильна в течение 1 месяца при температуре 2-8°C при условии, что при хранении рН приблизительно равен 7. Перед определением центрифугировать дистиллированной водой.

### МЕТОДИКА

1. Подогреть рабочий реагент и оборудование до температуры реакции.
2. Пипетировать в кювету (Примечание 1,2):

	Сыворотка или плазма	Моча
Реагент (A)	0.8 мл	0.8 мл
Образец	30 мкл	15 мкл

3. Смешать и поместить кювету в фотометр. Запустить таймер. Пипетировать по прошествии 3-5 минут:

Реагент (B)	0.2 мл	0.2 мл
-------------	--------	--------

4. Смешать.

5. По прошествии 2 минут отметить начальную абсорбцию при длине волны 405 нм, произвести новые измерения каждую минуту в течение 3 минут.

6. Рассчитать среднее увеличение абсорбции в минуту ( $\Delta A/\text{мин}$ ).

### РАСЧЕТ

Концентрация панкреатической  $\alpha$ -амилазы в образце рассчитывается по следующей формуле:

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

Молярный коэффициент абсорбции ( $\epsilon$ ) 4-нитрофенола при длине волны 405 нм составляет 10.600 и оптический путь ( $l$ ) 1 см. Для образцов сыворотки и плазмы общий объем реакции ( $Vt$ ) составляет 1.030, в то время как объем образца ( $V_s$ ) составляет 0.030. Для образцов мочи общий объем реакции ( $Vt$ ) составляет 1.015, объем образца ( $V_s$ ) составляет 0.015. 1 Е/л соответствует 0.0166 мккат/л. Для расчета каталитической концентрации используются следующие коэффициенты:

$\Delta A/\text{мин}$	Сыворотка, плазма	Моча
		$\times 3239 = \text{Е/л}$ $\times 53.8 = \text{мккат/л}$

### НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Сыворотка, плазма <sup>4</sup>		Моча <sup>4</sup>	
Е/л	мккат/л	Е/л	мккат/л
13-53	0.22-0.88	7-356	0.12-5.92

Приведенные диапазоны величин следует рассматривать как ориентировочные. Для каждой лаборатории рекомендуется установить свои диапазоны.

### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуется использовать контрольную биохимическую сыворотку уровня I (код 18042), уровня II (код 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: 6.7 Ед/л = 0.11 мккат/л.
- Предел линейности: 1300 Ед/л = 21.6 мккат/л для сыворотки и плазмы и 2600 Ед/л = 43.2 мккат/л (Моча). Для более высоких значений следует развести образец дистиллированной водой в 5 раз и повторить измерение.
- Сходимость (внутри серии):

Сыворотка и плазма: Средняя концентрация	CV	n
62.4 Ед/л = 1.04 мккат/л	3.9 %	20
138 Ед/л = 2.29 мккат/л	1.1 %	20

- Воспроизводимость (между сериями):

Сыворотка и плазма: Средняя концентрация	CV	n
62.4 Ед/л = 1.04 мккат/л	4.3 %	25
138 Ед/л = 2.29 мккат/л	2.8 %	25

- Достоверность: Результаты, полученные с данными реагентами не показывали значительных отличий при сравнении с результатами, полученными с другими реагентами. Детали сравнительных экспериментов доступны по требованию.

- Влияние: Гемоглобин (10 г/л) и билирубин (20 мг/дл) не влияют на результаты теста. Гиперлипемия (триглицериды 30 г/л) оказывает влияние. Другие вещества или лекарственные средства также могут оказать влияние на метод<sup>5</sup>.

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

### ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

$\alpha$ -амилаза катализирует гидролиз  $\alpha$ -1,4-связей углеводов, состоящих из остатков  $\alpha$ -D-глюкозы, с образованием декстранов, мальтозы и глюкозы.  $\alpha$ -амилаза в основном образуется в поджелудочной железе (тип-P; P-AMY) и в слюнных железах (тип-S; S-AMY), хотя также встречается и в других тканях. Фермент, находящийся в сыворотке и моче, главным образом происходит из поджелудочной железы и слюнных желез.

Измерение активности амилазы в сыворотке и моче главным образом служит для диагностики заболеваний поджелудочной железы, таких как хронический или острый панкреатит. Гиперамилаземия также может возникнуть из-за почечной недостаточности, острой боли в брюшной полости, рака легких и яичников, повреждения слюнных желез, макроамилаземии, диабетического кетоацидоза, болезней желчевыводящих путей, повреждений мозга, хронического алкоголизма и приема медикаментов (опиаты). Отсутствие специфичности при измерениях активности  $\alpha$ -амилазы вызвало необходимость определения панкреатической  $\alpha$ -амилазы вместо общей активности фермента при дифференциальной диагностике у пациентов с острыми болями в брюшной полости<sup>6,7</sup>.

Клинический диагноз не должен быть поставлен только на основании одного теста и должен включать клинические и лабораторные данные.

### ПРИМЕЧАНИЯ

1. Слюна и кожа содержит  $\alpha$ -Амилазу. Не насыщайте растворы ртом, нельзя допускать контакта кожи с реагентами.
2. Данные реагенты могут использоваться в различных автоматических анализаторах. Инструкции доступны по требованию при запросе.

### БИБЛИОГРАФИЯ

1. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 8. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of  $\alpha$ -amylase. *Clin Chem Lab Med* 2006; 44: 1146-1155.
2. Lorentz K. Routine  $\alpha$ -amylase assay using protected 4-nitrophenyl-1,4- $\alpha$ -D-maltoheptaoside and a novel  $\alpha$ -glucosidase. *Clin Chem* 2000;46:644-649.
3. Gerber M, Naujocks H, Lenz H, Wulff K. A monoclonal antibody that specifically inhibits human salivary  $\alpha$ -amylase. *Clin Chem.* 1987;33:1158-62.4.
4. Steen G, Blijenberg BG, Leijnse B. Experiences with a new assay for pancreas specific alpha-amylase. *Ann Biol Clin* 1990;48(2):91-97.
5. Junge W, Werner W, Wilke B et al. Development and evaluation of assays for the determination of total and pancreatic amylase at 37 °C according to the principle recommended by the IFCC. *Clin Biochem* 2001;34:607-615.
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.
8. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 2005.