

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ АЛЬФА-АМИЛАЗЫ В СЫВОРОТКЕ, ПЛАЗМЕ КРОВИ И МОЧЕ (КАТ.№ В-10253)**НАЗНАЧЕНИЕ**

Набор предназначен для колориметрического определения активности α -амилазы аминокластическим методом со стойким крахмальным субстратом по Каравею в сыворотке, плазме крови, моче и дуоденальном содержимом в 200 образцах при конечном объёме реакционной смеси 5 мл.

ПРИНЦИП МЕТОДА

В присутствии α -амилазы крахмал гидролизуется с образованием конечных продуктов, не дающих цветной реакции с йодом. Об активности α -амилазы судят по уменьшению интенсивности окраски в исследуемой пробе.

СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1. Крахмал-субстрат 5 мл
Реагент 2. Фосфатный буфер,
0,2 моль/л, рН 7,0 100 мл
Реагент 3. 0,1 М раствор йода 10 мл

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность – не более 1,5 мг/(с·л).

Линейность. Набор обеспечивает линейность при определении активности α -амилазы в течение 10 мин. от 3 мг/(с·л) до 25 мг/(с·л) с отклонением не более 7%.

Коэффициент вариации – не более 7%.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Во избежание возможного инфицирования при работе с образцами крови необходимо надевать одноразовые резиновые перчатки.

При использовании набора следует соблюдать правила техники безопасности при работе с едкими и ядовитыми веществами.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Спектрофотометр, фотоэлектроколориметр, анализаторы открытого типа различных изготовителей, набор дозаторов, позволяющих отбирать объёмы 0,01-5,0 мл, секундомер, пробирки объёмом 10 мл, штатив, дистиллированная вода.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Свежая сыворотка или плазма крови, моча, дуоденальное содержимое, предварительно разведённое физиологическим раствором в 100 раз [1].

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

1. Приготовление рабочего реагента
Смешать необходимое количество реагентов 1 и 2 в соотношении 1:24. Полученный рабочий реагент годен для использования в течение 5 дней при хранении при 2-8°C в плотно закрытом флаконе.

2. Приготовление 0,01М раствора йода
К одному объёму реагента 3 добавить девять объёмов дистиллированной воды. Раствор готовить непосредственно перед анализом.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны 660 (630-690) нм.

Кювета с длиной оптического пути 10 мм.

Температура проведения реакции 37°C.

Приготовить пробы в соответствии со схемой определения (объёмы компонентов могут быть пропорционально изменены).

КлиниТест-Альфа-Амилаза

Схема определения

Раствор	Опытная проба	Холодная проба
---------	---------------	----------------

Рабочий реагент, мл	0,5	0,5
---------------------	-----	-----

Выдержать при температуре 37°C в течение 5 минут.

Образец, мл	0,01	-
-------------	------	---

Дистилл. вода, мл	-	0,01
-------------------	---	------

Выдержать при температуре 37°C в течение точно 7,5 минут. Время инкубации строго отсчитывать по секундомеру от момента внесения образца и затем сразу добавить:

0,01 М раствор йода, мл	0,5	0,5
-------------------------	-----	-----

Дистилл. вода, мл	4,0	4,0
-------------------	-----	-----

Образцы перемешать и измерить оптическую плотность опытной пробы (E_1) и холодной пробы (E_2) относительно дистиллированной воды.

РАСЧЁТ

Активность α -амилазы **A** выражают в мг крахмала, гидролизованного 1 л биологической жидкости за 1 секунду при 37°C. Расчёт провести по формуле:

$$A = \frac{(E_2 - E_1) \cdot 0,2}{E_2 \cdot 450 \cdot 10^{-5}} = \frac{E_2 - E_1}{E_2} \cdot 44,4 \text{ мг/(с} \cdot \text{л)}$$

где **0,2** – количество крахмала в пробе, мг,
450 – время инкубации, с,
10⁻⁵ – коэффициент пересчёта на 1 л биологической жидкости.

ПРИМЕЧАНИЯ

1. Параллельные пробы ставить обязательно.
2. При разведении анализируемого образца результат умножить на коэффициент разведения.

НОРМАЛЬНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Справочно.

Сыворотка 3,3-8,9 мг/(с·л)

Моча до 44 мг/(с·л)

Дуоденальное содержимое 1,7-4,4 мг/(с·л)

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор необходимо хранить при температуре 2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (24 месяца). Допускается хранение и транспортирование набора при температуре до +25°C не более 5 суток. Допускается однократное замораживание. Реагенты после вскрытия флаконов можно хранить при температуре 2-8°C в течение всего срока годности набора.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества может быть проведён по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Обеспечение качества лабораторных исследований. Преаналитический этап. Под ред. В.В. Меньшикова, М., 1999, "Лабинформ".