Версия 1-2021

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

_____А.Г. Плехов

«29» июня 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения
активности α-амилазы в сыворотке (плазме) крови и моче
энзиматическим кинетическим методом

«α-АМИЛАЗА-ВИТАЛ»,
ТУ 21.20.23-104-94568735-2021

1. НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1.1. Набор реагентов для определения активности α-амилазы в сыворотке (плазме) крови и моче энзиматическим кинетическим методом «α-АМИЛАЗА-ВИТАЛ» (далее по тексту - набор) предназначен для количественного определения активности α-амилазы в сыворотке (плазме) крови и суточной моче человека в клинической лабораторной диагностике, клинической медицине, медицинской биохимии и научно-исследовательской практике. Набор предназначен для лабораторной in vitro диагностики и должен применяться специалистами, имеющими необходимую квалификацию в данной области в соответствии с требованиями документов, регламентирующих деятельность лаборатории.

1.2. Показания к использованию набора – определение активности α-амилазы в сыворотке (плазме) крови и суточной моче с целью диагностики, мониторинга и контроля терапии заболеваний и повреждений поджелудочной железы и других органов желудочно-кишечного тракта.

1.3. Набор может быть использован для исследования всех групп населения без градации по демографическому или популяционному признаку. Противопоказаний не имеет.

1.4. Целевой аналит. α-амилаза – фермент класса гидролаз, катализирует расщепление полисахаридов (крахмала, гликогена) до простых углеводов (мальтоза, глюкоза); в сыворотке крови выделяют два изофермента – панкреатическую (P-тип) и слюнную (S-тип) α-амилазу, которые продуцируются поджелудочной железой и слюнными железами, соответственно.

Повышение активности α-амилазы в сыворотке (плазме) крови и суточной моче наблюдается при заболеваниях поджелудочной железы (острый панкреатит, рецидив хронического панкреатита, острый алкогольный панкреатит, киста) и других органов желудочно-кишечного тракта (острый аппендицит, перитонит, перфорирующая язва желудка и 12-перстной кишки, кишечная непроходимость), операциях и травмах брюшной полости, заболеваниях желчевыводящих путей (острый холецистит), воспалении слюнных желез (эпидемический паротит).

Снижение активности α-амилазы в сыворотке (плазме) крови наблюдается при терминальной стадии некроза поджелудочной железы, тяжелой форме тиреотоксикоза.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

При макроамилаземии в сыворотке (плазме) крови наблюдаются повышенные значения активности α-амилазы, при этом в суточной моче значения активности α-амилазы близки к нижней границе нормальных величин.

1.5. Варианты исполнения:

Комплект 1:
- реагент 1 – 1 флакон (48 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (12 мл).

Комплект 2:
- реагент 1 – 1 флакон (96 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (24 мл),

Комплект 3:
- реагент 1 – 1 флакон (200 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (50 мл).

Комплект 4:
- реагент 1 – 2 флакона (по 40 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 11 мл).

Комплект 5:
- реагент 1 – 4 флакона (по 40 мл),
- реагент 2 – 4 флакона (по 11 мл).

Комплект 6:
- реагент 1 – 3 флакона (по 20 мл),
- реагент 2 – 3 флакона (по 5,5 мл).

Комплект 7:
- реагент 1 – 8 флаконов (по 20 мл),
- реагент 2 – 8 флаконов (по 5,5 мл).

Комплект 8:
- реагент 1 – 2 флакона (по 50 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 15 мл).

Комплект 9:
- реагент 1 – 4 флакона (по 50 мл),
- реагент 2 – 4 флакона (по 15 мл),

Комплект 10:
- реагент 1 – 1 флакон (70 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (20 мл).

Комплект11:
- реагент 1 – 3 флакона (по 70 мл),
- реагент 2 – 3 флакона (по 20 мл).

Комплект 12:
- реагент 1 – 6 флаконов (по 70 мл),
- реагент 2 – 6 флаконов (по 20 мл).

Комплект 13:
- реагент 1 – 1 флакон (38 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (10 мл).

Комплект 14:
- реагент 1 – 4 флакона (по 20 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 10 мл).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Варианты исполнения рассчитаны* на:
Комплект 1 – 120 определений,
Комплект 2 – 240 определений,
Комплект 3 – 500 определений,
Комплект 4 – 400 определений,
Комплект 5 – 800 определений,
Комплект 6 – 285 определений,
Комплект 7 – 760 определений,
Комплект 8 – 560 определений,
Комплект 9 – 1120 определений,
Комплект 10 – 415 определений,
Комплект 11 – 1245 определений,
Комплект 12 – 2490 определений,
Комплект 13 – 180 определений,
Комплект 14 – 340 определений.
*В зависимости от параметров для ввода, указанных в руководстве пользователя для анализатора.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ

α-Амилаза катализирует реакцию гидролиза синтетического субстрата EPS (4,6-этилиден(G_7)-п-нитрофенил(G_1)-α,D-мальтогептаозид) с образованием неокрашенных нитрофенилмальтозидов. В реакции гидролиза нитрофенилмальтозидов под действием α-глюкозидазы образуются глюкоза и окрашенный п-нитрофенол. Скорость образования п-нитрофенола пропорциональна активности α-амилазы в анализируемом образце и измеряется фотометрически по увеличению оптической плотности при длине волны 405 (400-420) нм.

3. СОСТАВ

- реагент 1: HEPES (N,N-бис[2-гидроксиэтил-2-аминоэтансульфоновая] кислота), 100 ммоль/л; α-глюкозидаза, 2500 Е/л; бридж 35, 10 г/л; натрия азид, 0,095%; готов к использованию:
- комплект 1 - 1 флакон (48 мл),
- комплект 2 - 1 флакон (96 мл),
- комплект 3 - 1 флакон (200 мл),
- комплект 4 - 2 флакона (по 40 мл),
- комплект 5 - 4 флакона (по 40 мл),
- комплект 6 - 3 флакона (по 20 мл),
- комплект 7 - 8 флаконов (по 20 мл),
- комплект 8 - 2 флакона (по 50 мл),
- комплект 9 - 4 флакона (по 50 мл),
- комплект 10 - 1 флакон (70 мл),
- комплект 11 - 3 флакона (по 70 мл),
- комплект 12 - 6 флаконов (по 70 мл),
- комплект 13 - 1 флакон (38 мл),
- комплект 14 - 4 флакона (по 20 мл).

- реагент 2: HEPES (N,N-бис[2-гидроксиэтил-2-аминоэтансульфоновая] кислота), 100 ммоль/л; EPS, 5 ммоль/л; бридж 35, 1 г/л; натрия азид, 0,095%, готов к использованию:
- комплект 1 - 1 флакон (12 мл),
- комплект 2 - 1 флакон (24 мл),
- комплект 3 - 1 флакон (50 мл),
- комплект 4 - 2 флакона (по 11 мл),
- комплект 5 - 4 флакона (по 11 мл),
- комплект 6 - 3 флакона (по 5,5 мл),
- комплект 7 - 8 флаконов (по 5,5 мл),

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- комплект 8 - 2 флакона (по 15 мл),
- комплект 9 - 4 флакона (по 15 мл),
- комплект 10 - 1 флакон (20 мл),
- комплект 11 - 3 флакона (по 20 мл),
- комплект 12 - 6 флаконов (по 20 мл),
- комплект 13 - 1 флакон (10 мл),
- комплект 14 - 2 флакона (по 10 мл).

Примечание:

При постановке анализа могут быть использованы многокомпонентные калибраторы, аттестованные данным методом и зарегистрированные в установленном порядке.

4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Линейная область определения – в диапазоне 20-1320 Е/л.

Чувствительность – 20 Е/л.

Коэффициент вариации – не более 5 %.

Аналитическая специфичность набора: такие потенциально интерферирующие вещества, как гемоглобин до концентрации 13 г/л, билирубин до концентрации 650 мкмоль/л, триглицериды до концентрации 29,4 ммоль/л, аскорбиновая кислота до концентрации 83 мг/дл и общий белок до концентрации 100 г/л не влияют на правильность определения активности α-амилазы.

Качество набора может проверяться по контрольным материалам, аттестованным данным методом и зарегистрированным в установленном порядке.

Нормальные величины активности α-амилазы в сыворотке (плазме) крови - 25-110 Е/л, в суточной моче – 20-500 Е/сут.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон значений нормальных величин для обследуемого контингента людей.

Аналитические характеристики набора установлены в соответствии с ГОСТ Р 53022.2-2008, ГОСТ ISO 17511-2011.

5. ОБРАЗЦЫ

Свежая негемолизированная сыворотка крови или плазма крови (гепарин), суточная моча.

Взятие крови для анализа следует проводить с использованием стандартных процедур для венозной крови.

Образцы сыворотки (плазмы) крови можно хранить не более 7 суток при температуре +2-8°С или не более 1 месяца при температуре -18°С. Повторное замораживание образцов сыворотки (плазмы) крови не допускается. Образцы суточной мочи можно хранить не более 7 суток при температуре +2-8°С, замораживание образцов не допускается. Пробирки с образцами следует плотно закрывать.

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Реагенты содержат токсичное вещество – натрия азид. При попадании компонентов набора в глаза, на кожу и слизистые следует промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании следует выпить 0,5 л воды, вызвать рвоту, обратиться к врачу.

Для получения достоверных результатов следует избегать контакта рабочего реагента или реагентов 1, 2 с кожей пальцев и слюной из-за высокого содержания α-амилазы, работать в перчатках и маске!

При работе с Набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 и СП 1.3.2322-08.

При работе с набором и образцами сыворотки (плазмы) крови или суточной мочи человека следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, рассматривать

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

образцы как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Физические риски (возможность самопроизвольного взрыва или возгорания) отсутствуют.

7. ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- спектрофотометр с термостатируемой кюветой с длиной оптического пути 10 мм, полуавтоматический или автоматический биохимический анализатор с возможностью выполнения кинетического измерения при длине волны 405 (400-420) нм при температуре инкубации +37°С;
- термостат, обеспечивающий температуру +37±1°С;
- секундомер;
- дозаторы полуавтоматические одноканальные с одноразовыми наконечниками;
- пробирки вместимостью 1-2 мл;
- колба вместимостью 50 мл;
- дистиллированная вода;
- физиологический раствор (0,9 % раствор NaCl);
- перчатки резиновые или пластиковые.

Примечание. Использование набора на каждом анализаторе осуществляется в соответствии с руководством пользователя для анализатора. Параметры для ввода в программу анализаторов предоставляются по запросу.

8. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Подготовка реагентов 1, 2 (монореагентный метод)

Приготовление рабочего реагента: внести в колбу вместимостью 50 мл необходимое количество реагента 1 и реагента 2 в соотношении 4:1 и перемешать.

Подготовка реагентов 1, 2 (биреагентный метод)

Реагенты 1, 2 готовы к использованию.

Непосредственно перед использованием рабочий реагент, реагенты 1, 2 нагреть до температуры +37°С.

Для получения достоверных результатов следует избегать контакта рабочего реагента или реагентов 1, 2 с кожей пальцев и слюной из-за высокого содержания α-амилазы, работать в перчатках и маске!

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны: 405 (400-420) нм;

Длина оптического пути: 10 мм;

Температура инкубации: +37°С;

Фотометрирование: против воды или рабочего реагента.

Проведение анализа монореагентным методом:

В термостатируемую (+37°С) кювету спектрофотометра внести 0,5 мл рабочего реагента, добавить 0,02 мл анализируемого образца сыворотки (плазмы) крови или 0,01 мл анализируемого образца суточной мочи, пробу тщательно перемешать и одновременно включить секундомер, инкубировать 2 минуты (точно!), измерить оптическую плотность (Е). Замер оптической плотности повторить 3 раза с интервалом 1 минуту (точно!).

Проведение анализа биреагентным методом:

В термостатируемую (+37°С) кювету спектрофотометра внести 0,4 мл реагента 1, добавить 0,02 мл анализируемого образца сыворотки (плазмы) крови или 0,01 мл анализируемого образца суточной мочи, пробу тщательно перемешать и одновременно включить секундомер, инкубировать 1 минуту, добавить 0,1 мл реагента 2, пробу тщательно перемешать, инкубировать 2 минуты (точно!), измерить оптическую плотность (Е). Замер оптической плотности повторить 3 раза с интервалом 1 минуту (точно!).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Примечание.

Расход рабочего реагента, реагентов 1, 2 и анализируемых образцов зависит от типа используемого прибора и объема кюветы.

10. РАСЧЕТЫ

Изменение оптической плотности за 1 минуту (ΔE / *мин*) определить по формуле:

$$\Delta E / мин = \frac{\Delta E_n}{t},$$

где: ΔE_n – изменение оптической плотности пробы, ед. опт. плотн.;

t – интервал времени между определениями, мин.

Активность α-амилазы (A) в анализируемом образце сыворотки (плазмы) крови определить по формуле:

$$A = \Delta E / мин \times F_1,$$

где: $\Delta E / мин$ – изменение оптической плотности пробы за 1 минуту, ед. опт. плотн.;

F_1 – фактор пересчета для выражения активности α-амилазы в Е/л (указывается в паспорте на набор).

Активность α-амилазы (A) в анализируемом образце суточной мочи определить по формуле:

$$A = \Delta E / мин \times F_2 \times K,$$

где: $\Delta E / мин$ – изменение оптической плотности пробы за 1 минуту, ед. опт. плотн.;

F_2 – фактор пересчета для выражения активности α-амилазы в Е/сут (указывается в паспорте на набор),

K – количество суточной мочи, л.

Примечание.

Коэффициент пересчета единиц измерения 1 Е/л = 16,67 нмоль/(с×л).

Если значение активности α-амилазы в анализируемой пробе превышает 1320 Е/л, анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором, повторить определение и полученный результат умножить на фактор разведения.

11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя и его транспортирование всеми видами крытого транспорта допускается при температуре +2-8°С в течение всего срока годности, при температуре до +25°С – не более 2 суток, замораживание компонентов набора не допускается.

Использование набора, транспортировавшегося или хранившегося с нарушением регламентированного температурного режима, не допускается.

12. УСЛОВИЯ ЭКСПЛУАТАЦИИ

Срок годности набора – 36 месяцев.

Реагенты 1, 2 после вскрытия флаконов можно хранить при температуре +2-8°С не более 3 месяцев.

Рабочий реагент можно хранить при температуре +2-8°С не более 10 суток.

Оптическая плотность рабочего реагента, измеренная при длине волны 405 нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм, не должна превышать 0,1 ед. опт. плотн.

Реагенты 1 и 2 можно хранить на борту анализатора не более 1 месяца при условии круглосуточного охлаждения.

Рабочий реагент можно хранить на борту анализатора не более 10 суток при условии круглосуточного охлаждения.

Необходимо обеспечивать достаточную герметичность флаконов!

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа могут привести к получению неверных результатов исследования.

До окончания срока годности набора, при условии соблюдения температурного режима хранения, транспортирования и эксплуатации, производитель гарантирует работоспособность набора и соответствие всех аналитических и диагностических характеристик набора заявленным. Не допускается использование серии набора по истечении срока ее годности. Техническое обслуживание и ремонт медицинского изделия для диагностики in vitro не применяются.

Производитель произвел верификацию, валидацию и оценку стабильности набора в соответствии с ГОСТ Р ИСО 23640-2015. Результаты исследований, отраженные в соответствующих протоколах, признаны удовлетворяющими параметрам, заявленным в настоящей технической документации.

Оценка рисков, связанных с возможным изменением параметров проведения анализа (изменение температуры и времени инкубации), проводилась в соответствии с ГОСТ ISO 14971-2011. По результатам анализа риски минимизированы до уровня «приемлемый».

13. СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

Утилизацию использованных реагентов и реагентов с истекшим сроком годности производить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 в отношении отходов класса «Б».

Дезинфекцию следует проводить в соответствии с МУ 287-113.

14. ЗАЩИТА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Производитель гарантирует, что набор разработан и произведен с целью предотвращения любых рисков для окружающей среды. Набор в процессе использования не оказывает воздействия на окружающую среду и не приводит к ущербу для нее при соблюдении всех мер безопасности и утилизации набора, рекомендованных производителем.

15. ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться к производителю - в Акционерное Общество “Витал Девелопмент Корпорэйшн” (АО “Витал Девелопмент Корпорэйшн”) по адресу:

194356, Санкт-Петербург, Дорога в Каменку, д. 56, лит. А.

Тел/факс: (812) 702-10-86, 8(800) 200-23-24

Генеральный директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» А.Г. Плехов

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» П.К. Варнавичус

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 7 ЛИСТОВ

«08» 08 2021 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус Г.К.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru