

ALPHA AMYLASE

Cat. No.	Pack Name	Packaging (Content)
BLT00007	AMY 250	R1: 4 x 50 ml, R2: 1 x 50 ml



INTENDED USE

Diagnostic reagent for quantitative *in vitro* determination of alpha-Amylase in human serum, plasma and urine.

CLINICAL SIGNIFICANCE

α -Amylases are hydrolytic enzymes, which break down starch into maltose. In the human body α -amylases originate from various organs: the pancreatic amylase is produced by the pancreas and released into the intestinal tract, the salivary amylase is synthesized in the salivary glands and secreted into saliva. The amylase present in the blood is eliminated through the kidney and excreted into the urine. Therefore, elevation of serum activity is reflected in a rise of urinary amylase activity.

Measurement of α -amylase in serum and urine is mainly used for the diagnosis of pancreatic disorders as well as for detecting the development of complications. In acute pancreatitis the blood amylase activity increases within few hours after onset of abdominal pain, peaks after approx. 12 hours and returns to values within the reference range at the latest after 5 days. The specificity of α -amylase for pancreatic disorders is not very high as elevated levels are measured also in various non-pancreatic diseases, e.g. parotitis and renal insufficiency. Therefore, for confirmation of an acute pancreatitis measurement of lipase should be additionally performed.

PRINCIPLE

4,6 –Ethyliden – 4-nitrophenyl- α -D-maltoheptaoside serves as the substrate for determinativ of the catalytic concentration of alpha-amylase. After hydrolysis of the internal part of the chain of AMS and the rest of the chain by glukosidase, p-nitrophenol is gradually released. Its absorbance is measured at 405 nm. The absorbance increase is proportional to the catalytic concentration of alpha-amylase in the sample.

REAGENT COMPOSITION

R1

Good's buffer, pH 7.10	125 mmol/l
NaCl	62.5 mmol/l
MgCl ₂	12.5 mmol/l
α -glukosidase	> 42 μ kat/l

R2

Good's buffer, pH 7.10	500 mmol/l
4,6 –Ethyliden – 4-nitrophenyl-maltoheptaoside	8 mmol/l

REAGENT PREPARATION

Reagents are liquid, ready for use.

STABILITY AND STORAGE

The unopened reagents are stable till the expiry date stated on the bottle and kit label when stored at 2–8°C.

Two reagents method – substrate start

Reagents R1 and R2 are liquid, ready to use.

After opening, reagents are stable until expiry date at 2–8°C if stored at appropriate conditions, closed carefully and without any contamination.

Monoreagent method – sample start

Mix 4 portion of reagent R1 with 1 portion of reagent R2.

Stability:	4 weeks	at 15–25°C	in the dark
	6 months	at 2–8°C	in the dark

SPECIMEN COLLECTION & HANDLING

It is recommended to follow NCCLS procedures (or similar standardized conditions).

Serum, plasma (heparin, EDTA), urine.

Stability

in serum / plasma:	8 weeks	at 4–8°C
in urine:	26 weeks	at 4–8°C

Discard contaminated specimens.

CALIBRATION

Calibration with calibrator Lyonorm Calibrator is recommended.

QUALITY CONTROL

For quality control Lyonorm HUM N and Lyonorm HUM P are recommended.

UNIT CONVERSION

U/l x 0.017 = μ kat/l

EXPECTED VALUES³

fS alpha-amylase (μ kat/l) 37 °C up to 1.67

fU alpha-amylase (μ kat/l) 37 °C up to 8.35

The range of reference values is only approximate; it is recommended that each laboratory verify the extent of the reference interval for their particular examined population.

PERFORMANCES

Data contained within this section is representative of performance on ERBA XL systems. Data obtained in your laboratory may differ from these values.

Limit of quantification: 0,16 μ kat/l

Linearity: 36 μ kat/l

Measuring range: 0,16 – 36 μ kat/l

PRECISION

Intra-assay (n=20)	Mean (μ kat/l)	SD (μ kat/l)	CV (%)
Sample 1	1.31	0.013	0.96
Sample 2	3.06	0.040	1.30

Inter-assay (n=20)	Mean (μ kat/l)	SD (μ kat/l)	CV (%)
Sample 1	1.35	0.039	2.89
Sample 2	2.96	0.046	1.57

COMPARISON

A comparison between XL-Systems Amylase (y) and a commercially available test (x) using 40 samples gave following results:

N = 40

r = 0.989

y = 1.012 x + 0.030 μ kat/l

INTERFERENCES

Following substances do not interfere:

haemoglobin up to 5 g/l, bilirubin up to 40 mg/dl, triglycerides up to 1000 mg/dl.

HEALTH PROTECTION

For in vitro diagnostic use. To be handled by entitled and professionally educated person. Reagents of the kit are not classified like dangerous.

FIRST AID

In case of an accidental ingestion, wash up the mouth and drink about 0.5 l of water. On eye contact rinse the eye quickly and thoroughly with the jet of tap of water. Contaminated skin should be washed with warm water and soap. In all serious cases of health damage consult a physician.

WASTE DISPOSAL

All tested samples should be treated as potentially infectious and with an eventual rest of reagents should be disposed in accordance with the internal regulations for dangerous waste, in compliance with local and national regulations relating to the safe handling of dangerous materials. Paper packing and others should be handed over for recycling or discarded as sorted waste (paper, glass, plastic).

ASSAY PROCEDURE

Wavelength: 405 (400 - 420) nm

Cuvette: 1 cm

Temperature: 37°C

Reagents and sample volume can be modified, by respecting reagents/sample volume ratio.

Two reagents method – substrate start

	Reagent blank	Calibrator	Sample
Reagent 1	0.800 ml	0.800 ml	0.800 ml
Sample	-	-	0.020 ml
Calibrator	-	0.020 ml	-
Distilled water	0.020 ml	-	-
Mix and after 1 min. incubation (at 37 °C) and			
Reagent 2	0.200 ml	0.200 ml	0.200 ml

Mix and measure the initial absorbance after 2 minutes from the addition of the reagent 2 (at 37 °C). Measure the absorbance change exactly after 1, 2 and 3 min. Calculate 1 minute absorbance change (ΔA).

Monoreagent method – sample start

	Reagent blank	Calibrator	Sample
Reagent 1	1.00 ml	1.00 ml	1.00 ml
Sample	-	-	0.020 ml
Calibrator	-	0.020 ml	-
Distilled water	0.020 ml	-	-

Mix and measure the initial absorbance after 2 minutes from the addition of the reagent 2 (at 37 °C). Measure the absorbance change exactly after 1, 2 and 3 min. Calculate 1 minute absorbance change (ΔA).

CALCULATION

$$1. \text{ alpha-amylase } (\mu\text{kat/l}) = \frac{\Delta A_{\text{sam}}}{\Delta A_{\text{cal}}} \times C_{\text{cal}} \quad C_{\text{cal}} = \text{calibrator concentration}$$

2. Using factor:

alpha-amylase (μ kat/l) = f x ΔA /min.

f = factor:

405 nm	Serum/plasma	Urine
Serum/plasma	94.5	187.5
Urine	75.9	150.3

NOTE

Saliva and skin contain alpha-amylase therefore never pipette reagents by mouth and avoid contamination of samples and reagents. Even trace contamination can affected results.

Applications for automatic analysers will be supplied on request.



Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erba.com, www.erbamannheim.com

N/112/23/E/INT

Date of revision: 24. 5. 2023

альфа-Амилаза LIQUID - определение активности альфа-амилазы

Кат. №	Фасовка
BLT00007	R1: 4 x 50 мл, R2: 1 x 50 мл



Метод
Набор реагентов для определения активности альфа-амилазы в сыворотке, плазме и моче.

Клиническое значение
В организме человека альфа-амилаза имеет различное происхождение: панкреатическая амилаза синтезируется поджелудочной железой и выходит в кишечный тракт, слюнная амилаза синтезируется в слюнных железах и секретируется в слюну. Альфа-амилаза катализирует гидролиз α-1-4-гликозидных связей крахмала и других родственных полисахаридов, до мальтозы и других олигосахаридов. Фермент альфа-амилаза - относительно небольшая молекула, которая быстро выводится почками и выделяется с мочой. Таким образом, повышение активности альфа-амилазы в сыворотке, отражается на повышении альфа-амилазы в моче. Активность альфа-амилазы в сыворотке имеет большое значение для дифференциальной диагностики острого или хронического панкреатита. Акивность альфа-амилазы наиболее часто измеряется для диагностики острого панкреатита, когда ее уровень в сыворотке увеличивается во много раз. Во время острого панкреатита альфа-амилаза увеличивается примерно через 4 часа после начала боли, достигает пика через 12 часов и остается повышенной в течение 5 дней. Не панкреатические причины увеличения активности амилазы сыворотки: паратит, рак слюных желез или бронхов, непроходимость кишечника, перитонит, диабетический кетоацидоз, алкогольная интоксикация, острый аппендицит, мочевые камни, перфорация перитической язвы, патология билиарного тракта, разрыв труб при внематочной беременности. Активность амилазы в сыворотке увеличивается в 1-2 раза при почечной недостаточности. Поэтому для подтверждения острого панкреатита необходимо дополнительно выполнять измерение липазы.

Принцип реакции
В качестве субстрата для определения активности альфа-амилазы используется 4,6 – Этилиден–4- нитрофенил-D-мальтогептаозид. Под действием альфа-амилазы внутренняя часть цепи субстрата расщепляется с образованием нитрофенилмальтогептаозидов, которые под действием α-глюкозидазы гидролизуются до глюкозы и окрашенного в желтый цвет п-нитрофенола, имеющего максимум поглощения при 405 нм. Возрастание поглощения прямо пропорционально активности альфа-амилазы в образце.

Реагенты			
R1			
Гудса буфер, рН 7,10	125 ммоль/л		
Хлорид натрия	62,5 ммоль/л		
Хлорид магния	12,5 ммоль/л		
α-Глюкозидаза	> 42 мккат/л		
R2			
Гудса буфер, рН 7,10	500 ммоль/л		
4,6 –Этилиден – 4- нитрофенил-мальтогептаозид	8 ммоль/л		

Приготовление рабочих реагентов
Реагенты жидкие, готовые к использованию.

Хранение и стабильность
Двухреагентный метод – старт субстратом
Реагенты R1 и R2 жидкие, готовые к использованию. Реагенты стабильны до достижения указанного срока годности, если хранятся при 2–8°С. После вскрытия, реагенты стабильны до указанного срока годности, если хранятся при 2–8°С, в тщательно закрытых флаконах, избегая испарения или контаминации реагентов.
Монореагентный метод – старт образцом
Смешать 4 части раствора реагента 1 (R1) с 1 частью раствора реагента 2 (R2), тщательно перемешать. Готовый рабочий раствор стабилен 4 недели при 15–25°С при хранении в защищенном от света месте. 6 месяцев при 2–8°С при хранении в защищенном от света месте.

Образцы
Сыворотка, гепаринизированная или ЭДТА плазма, моча. Избегать гемолиза! Исследование проводить в соответствии с протоколом NCCLS (или аналогов).
Стабильность
в сыворотке / плазме:
8 недель при 4–8°С
в моче:
26 недель при 4–8°С
Загрязненные образцы не использовать.

Калибровка
Для калибровки рекомендуется использовать Лионорм Калибратор.

Контроль качества
Для проведения контроля качества рекомендуется контрольная сыворотка: Лионорм ГУМ Н, Лионорм ГУМ П.

Коэффициент пересчета
Е/л x 0,017 = мккат/л

Нормальные величины³
Сыворотка / Плазма (37°С): До 1,67 мккат/л (100 Е/л)
Моча: До 8,35 мккат/л (492 Е/л)
Приведенные диапазоны величин следует рассматривать как ориентировочные. Каждой лаборатории необходимо определять свои диапазоны.

Значения величин
Эти значения нормальных величин были получены на автоматических анализаторах серии ERBA XL. Результаты могут отличаться, если определение проводили на другом типе анализатора.
Рабочие характеристики
Чувствительность: 0,16 мккат/л (9,41 Е/л)
Линейность: до 36 мккат/л (2118 Е/л)
Диапазон измерений: 0,16 – 36 мккат/л (9,41 – 2118 Е/л)

Внутрисерийная	N	Среднеарифметическое значение (мккат/л)	SD (мккат/л)	CV (%)
Образец 1	20	1,31	0,013	0,96
Образец 2	20	3,06	0,040	1,30

Межсерийная	N	Среднеарифметическое значение (мккат/л)	SD (мккат/л)	CV (%)
Образец 1	20	1,35	0,039	2,89
Образец 2	20	2,96	0,046	1,57

Сравнение методов
Сравнение было проведено на 40 образцах с использованием реагентов серии БЛТ: α-Амилаза (у) и имеющихся в продаже реагентов с коммерчески доступной методикой (х).
Результаты: у = 1,012 x + 0,030 мккат/л г = 0,989

Специфичность / Влияющие вещества
Гемоглобин до 5 г/л, Билирубин до 40 мг/дл, Триглицериды до 1000 мг/дл не влияют на результаты.

Предупреждения и меры предосторожности
Набор реагентов предназначен для in vitro диагностики профессионально обученным лаборантом. Реагенты, входящие в набор, не содержат опасные вещества.

Первая помощь
При приеме внутрь следует прополоскать рот водой, выпить 0,5 л воды и вызвать рвоту. При попадании в глаза быстро промыть их проточной водой. При попадании на кожу необходимо промыть теплой водой с мылом. Во всех серьезных случаях обратиться к врачу.

Утилизация использованных материалов
Все образцы теста должны рассматриваться, как потенциально инфицированные и вместе с остальными реагентами должны быть уничтожены в соответствии с существующими в



каждой стране правилами для данного вида материалов. Бумажная упаковка и другое (бумага, стекло, пластик) должны быть рассортированы для выброса с мусором или отправления на переработку.

Анализ
Проведение анализа
Длина волны: 405 (400-420) нм
Оптический путь: 1 см
Температура: 37°С
Объемы образца и реагентов могут быть изменены при сохранении соотношения реагенты / образец

	Бланк по реагенту	Калибратор	Образец
Реагент 1	0,800 мл	0,800 мл	0,800 мл
Образец	-	-	0,020 мл
Калибратор	-	0,020 мл	-
Дистил. вода	0,020 мл	-	-
Смешать, инкубировать 1 мин. Добавить:			
Реагент 2	0,200 мл	0,200 мл	0,200 мл

После добавления реагента 2 смешать, через 2 мин. измерить поглощение при (37°С). Измерить поглощение точно через 1, 2 и 3 минуты. После измерения рассчитать среднее изменение поглощения в минуту (ΔА).

	Бланк по реагенту	Калибратор	Образец
Рабочий реагент	1,000 мл	1,000 мл	1,000 мл
Образец	-	-	0,020 мл
Калибратор	-	0,020 мл	-
Дистил. вода	0,020 мл	-	-

После добавления реагента 2 смешать, через 2 мин. измерить поглощение при (37°С). Измерить поглощение точно через 1, 2 и 3 минуты. После измерений рассчитать среднее изменение поглощения в минуту (ΔА).

Расчеты
Рассчитайте активность альфа – амилазы в пробе, используя 1. Калибратор

$$\text{альфа-амилаза (Е/л; мккат/л)} = C_{\text{кал}} \times \frac{\Delta A_{\text{обр}}}{\Delta A_{\text{кал}}}$$

C_{кал} = значение активности альфа-амилазы в калибраторе

2. Фактор:
альфа–амилаза = Ф x ΔА/мин
Ф – фактор пересчета, см. нижеследующую таблицу (мккат/л)

405 нм	Сыворотка/Плазма	Моча
Старт субстратом	94,5	187,5
Старт сывороткой	75,9	150,3

Ф – фактор пересчета, см. нижеследующую таблицу (Е/л)

405 нм	Сыворотка/Плазма	Моча
Старт субстратом	5559	11029
Старт сывороткой	4465	8841

Примечание
Слюна и кожа содержат альфа-амилазу, поэтому избегать пипетирования реагента ртом и контакта реагента с кожей. Даже следовые количества могут повлиять на результат.

Протоколы для использования на автоматических анализаторах могут быть получены по запросу.



Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erba.com, www.erbamannheim.com

N/112/23/E/INT Дата проведения контроля: 24. 5. 2023

ALPHA AMYLASE

Kat. č.	Název balení	Obsah balení
BLT00007	AMY 250	R1: 4 x 50 ml, R2: 1 x 50 ml



POUŽITÍ
Diagnostická souprava pro kvantitativní *in vitro* stanovení katalytické koncentrace alfa-amylasy v lidském séru, plazmě nebo moči.

KLINICKÝ VÝZNAM
α-amylasa je enzym produkovaný slinnými žlázami a slinivkou břišní; α-amylasa katalyzuje hydrolyzu α-1-4-glykosidických vazeb škrobu a dalších polysacharidů za vzniku maltózy a jiných oligosacharidů.
Amylasy je relativně malá molekula, která se ledvinami vylučuje do moči.
Stanovení aktivity α-amylasy se využívá zejména při diagnózách poruch slinivky břišní. V případě akutní pankreatitidy začne vzrůstat aktivita α-amylasy přibližně 4 hodiny po nástupu bolesti, maxima dosahuje za 24 hodin a zůstává zvýšená během 3–7 dnů. Hyperamylasemie je spojena také s jinými akutními břišními příhodami, onemocněním slinných žláz, mimoděložním těhotenstvím a makroamylasemií.

PRINCIP METODY
Substrátem pro stanovení katalytické koncentrace alfa-amylasy je 4,6-etyliden – 4-nitrofenyl-α-D-maltoheptaosid. Po hydrolyze vnitřní části řetězce AMS a zbytku řetězce glukosidasou se postupně uvolní p-nitrofenol, jehož absorbance se měří při 405 nm. Nárůst absorbance je úměrný katalytické koncentraci alfa-amylasy ve vzorku.

SLOŽENÍ ČINIDEL	
R1	
Goodův pufr, pH 7,10	125 mmol/l
NaCl	62,5 mmol/l
MgCl ₂	12,5 mmol/l
α-glukosidasa	> 42 µkat/l
R2	
Goodův pufr, pH 7,10	500 mmol/l
4,6 –Etyliden – 4-nitrofenyl-maltoheptaosid	8 mmol/l

SLOŽENÍ REAKČNÍ SMĚSI	
Goodův pufr, pH 7,10	196 mmol/l
NaCl	49 mmol/l
MgCl ₂	9,8 mmol/l
α-glukosidasa	> 33 µkat/l
4,6 –Etyliden – 4-nitrofenyl-maltoheptaosid	1,6 mmol/l

PŘÍPRAVA PRACOVNÍCH ROZTOKŮ
Činidla jsou kapalná, připravená k použití.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA PRACOVNÍCH ROZTOKŮ
Dvoureagenční metoda - start substrátem
Činidla R1 a R2 jsou kapalná a jsou určena k přímému použití. Skladována před i po otevření při 2–8 °C a chráněna před světlem a kontaminací jsou činidla stabilní do data expirace, uvedeného na obalu.
Jednoreagenční metoda - start vzorkem
Pracovní roztok se připraví smícháním 4 dílů činidla R1 s 1 dílem činidla R2.
Stabilita: 4 týdny při 15–25 °C v temnu
6 měsíců při 2–8 °C v temnu

VZORKY
Sérum, plazma (EDTA, heparin), moč.
Doporučujeme postupovat dle NCCLS (nebo podobných standardů).
Stabilita
v séru, plazmě: 8 týdnů při 4–8 °C
v moči: 26 týdnů při 4–8 °C
Nepoužívejte kontaminované vzorky.

KALIBRACE
Ke kalibraci se doporučuje Lyonorm Kalibrátor.

KONTROLA KVALITY
Ke kontrole se doporučuje Lyonorm HUM N a Lyonorm HUM P.

PŘEPOČET JEDNOTEK
U/l x 0,017 = µkat/l

REFERENČNÍ HODNOTY
fS µ-amylasy (µkat/l) 37 °C do 1,67
fU µ-amylasy (µkat/l) 37 °C do 8,35
Referenční rozmezí je pouze orientační, doporučuje se, aby si každá laboratoř ověřila rozsah referenčního intervalu pro populaci, pro kterou zajišťuje laboratorní vyšetření.

VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY
Výkonnostní charakteristiky byly získány na automatických analyzátoch ERBA XL. Data získaná ve vaší laboratoři se mohou od těchto hodnot lišit.
Dolní mez stanovitelnosti: 0,16 µkat/l
Linearity: 36 µkat/l
Pracovní rozsah: 0,16–36 µkat/l

PŘESNOST			
Intra-assay (n=20)	Průměr (µkat/l)	SD (µkat/l)	CV (%)
Vzorek 1	1,31	0,013	0,96
Vzorek 2	3,06	0,040	1,30

Inter-assay (n=20)			
Vzorek 1	Průměr (µkat/l)	SD (µkat/l)	CV (%)
Vzorek 2	2,96	0,046	1,57

SROVNÁNÍ S KOMERČNĚ DOSTUPNOU METODOU
Lineární regrese:
N = 40
r = 0,989
y = 1,012 x + 0,030 µkat/l

INTERFERENCE
Následující analyty neinterferují:
hemoglobin do 5 g/l, bilirubin do 40 mg/dl, triglyceridy do 1000 mg/dl.

BEZPEČNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY
Určeno pro *in vitro* diagnostické použití oprávněnou a odborně způsobilou osobou. Činidla soupravy nejsou klasifikována jako nebezpečná.

PRVNÍ POMOC
Při náhodném požití vypláchnout ústa a vypít asi 0,5 l vody, při vniknutí do oka provést rychlý a důkladný výplach proudem čisté vody. Při potřísnění omýt pokožku teplou vodou a mýdlem. Ve vážných případech poškození zdraví vyhledat lékařskou pomoc.

NAKLÁDÁNÍ S ODPADY
Na všechny zpracované vzorky je nutno pohlížet jako na potencionálně infekční a spolu s případnými zbytky činidel je likvidovat podle vlastních interních předpisů jako nebezpečný odpad v souladu se Zákonem o odpadech. Papírové a ostatní obaly se likvidují podle druhu materiálu jako tříděný odpad (papír, sklo, plasty).

POSTUP MĚŘENÍ
Vlnová délka: 405 (400–420) nm
Kyveta: 1 cm
Teplota: 37 °C
Objemový poměr sérum/reakční směs 1/51
Objem pracovních roztoků a vzorků lze měnit, pro garanci analytických parametrů však jejich vzájemný poměr musí být zachován.

Dvoureagenční metoda – start substrátem			
	Reagenční blank	Kalibrátor	Vzorek
Činidlo 1	0,800 ml	0,800 ml	0,800 ml
Vzorek	-	-	0,020 ml
kalibrátor	-	0,020 ml	-
Destilovaná voda	0,020 ml	-	-
Promíchá se a po inkubaci 1 min (37°C) se přidá:			
Činidlo 2	0,200 ml	0,200 ml	0,200 ml

Promíchá se a změří se počáteční absorbance po 2 minutách od přidání činidla 2 (při 37 °C). Měří se změna absorbance přesně po 1, 2 a 3 minutách. Vypočítá se změna absorbance za 1 minutu (ΔA).

Jednoreagenční metoda – start vzorkem			
	Reagenční blank	Kalibrátor	Vzorek
Pracovní roztok	1,00 ml	1,00 ml	1,00 ml
Vzorek	-	-	0,020 ml
kalibrátor	-	0,020 ml	-
Destilovaná voda	0,020 ml	-	-

Promíchá se a změří se počáteční absorbance po 2 minutách od přidání činidla 2 (při 37 °C). Měří se změna absorbance přesně po 1, 2 a 3 minutách. Vypočítá se změna absorbance za 1 minutu (ΔA).

VÝPOČET
1. alfa-amylasy (µkat/l) = $\frac{\Delta A_{vz}}{\Delta A_{kal}} \times C_{kal}$ C_{kal} = koncentrace kalibrátoru
2. V případě kalibrace pomocí kalibračního faktoru přes molární absorbanci: alfa-amylasy (µkat/l) = f x ΔA/min.
f = faktor:

405 nm	Sérum/plazma	Moč
Start substrátem	94,5	187,5
Start sérem	75,9	150,3

POZNÁMKA
Sliny a pokožka obsahují α-amylasu, proto nikdy nepipetujte činidla ústy a zabraňte kontaminaci vzorků a činidel. I stopová kontaminace může ovlivnit výsledky.

Aplikace na automatické analyzátory jsou dodávány na vyžádání.

ALPHA AMYLASE

Kat. č.	Názov balenia	Obsah balenia
BLT00007	AMY 250	R1: 4 x 50 ml, R2: 1 x 50 ml



POUŽITIE

Diagnostická súprava na kvantitatívne in vitro stanovenie alfa-amylázy v sére, plazme alebo moči.

KLINICKÝ VÝZNAM

α -amyláza je enzým produkovaný slinnými žľazami a pankreasom; α -amyláza katalyzuje hydrolyzu α -1-4-glykozidických väzieb škrobu a ďalších polysacharidov za vzniku maltózy a iných oligosacharidov.

Amyláza je relatívne malá molekula, ktorá sa cez obličky vylučuje močom.

Stanovenie aktivity α -amylázy sa predovšetkým využíva pri diagnózach porúch pankreasu. V prípade akútnej pankreatitídy začne vzrastať aktivita α -amylázy približne 4 hodiny po nástupe bolesti, maximum dosahuje za 24 hodín a zostáva zvýšená 3–7 dní. Hyperamylazémia je tiež spojená s inými akútnymi brušnými príhodami, ochorením slinných žliaz, mimomaternicovým tehotenstvom a makroamylazémiou.

PRINCÍP METÓDY

Substrátom stanovenia katalytickej koncentrácie alfa-amylázy je 4,6-etyliden – 4-nitrofenyl- α -D-maltoheptaosid. Po hydrolyze vnútornej časti reťazca AMS a zvyšku reťazca glukozidázou sa postupne uvoľní p-nitrofenol, ktorého absorbancia sa meria pri 405 nm. Nárast absorbancie je úmerný katalytickej koncentrácii alfa-amylázy vo vzorke.

ZLOŽENIE ČINIDIEL

R1

Goodov pufer, pH 7,10	125 mmol/l
NaCl	62,5 mmol/l
MgCl ₂	12,5 mmol/l
α -glukosidáza	> 42 μ kat/l

R2

Goodov pufer, pH 7,10	500 mmol/l
4,6 –Etyliden – 4-nitrofenyl-maltoheptaosid	8 mmol/l

ZLOŽENIE REAKČNEJ ZMESI

Goodov pufer, pH 7,10	196 mmol/l
NaCl	49 mmol/l
MgCl ₂	9,8 mmol/l
α -glukosidáza	> 33 μ kat/l
4,6 –Etyliden – 4-nitrofenyl-maltoheptaosid	1,6 mmol/l

PRÍPRAVA PRACOVNÝCH ROZTOKOV

Činidlá sú kvapalné, pripravené na použitie.

SKLADOVANIE A STABILITA PRACOVNÝCH ROZTOKOV

Dvoureagenčná metóda - štart substrátom

Činidlá R1 a R2 sú kvapalné a sú určené na priame použitie. Skladované pred i po otvorení pri 2–8 °C a chránené pred svetlom a kontamináciou sú činidlá stabilné do dátumu expirácie, uvedeného na obale.

Jednoreagenčná metóda - štart vzorkou

Pracovný roztok sa pripraví zmiešaním 4 dielov činidla R1 s 1 dielom činidla R2.

Stabilita:	4 týždne	pri 15–25 °C	v tme
	6 mesiacov	pri 2–8 °C	v tme

VZORKY

Sérum, plazma (EDTA, heparín), moč.

Doporučujeme postupovať podľa NCCLS (alebo podobných štandardov).

Stabilita

v sére, plazme: 8 týždňov pri 4–8 °C

v moči: 26 týždňov pri 4–8 °C

Nepoužívajte kontaminované vzorky.

KALIBRÁCIA

Na kalibráciu sa doporučuje Lyonorm Kalibrátor.

KONTROLA KVALITY

Na kontrolu sa doporučuje Lyonorm HUM N a Lyonorm HUM P.

PREPOČET JEDNOTIEK

U/l x 0,017 = μ kat/l

REFERENČNÉ HODNOTY³

fS μ -amyláza (μ kat/l) 37 °C do 1,67

fU μ -amyláza (μ kat/l) 37 °C do 8,35

Referenčné rozmedzie je iba orientačné, doporučuje sa, aby si každé laboratórium overilo rozsah referenčného intervalu pre populáciu, pre ktorú zabezpečuje laboratórne vyšetrenie.

VÝKONNOSTNÉ CHARAKTERISTIKY

Výkonnostné charakteristiky boli získané na automatických analyzátoroch ERBA XL. Údaje získané vo vašom laboratóriu sa môžu od týchto hodnôt líšiť.

Dolná medza stanovitelnosti: 0,16 μ kat/l

Linearita: 36 μ kat/l

Pracovný rozsah: 0,16–36 μ kat/l

PRESNOSŤ

Intra-assay (n=20)	Priemer (μ kat/l)	SD (μ kat/l)	CV (%)
Vzorka 1	1,31	0,013	0,96
Vzorka 2	3,06	0,040	1,30

Inter-assay (n=20)	Priemer (μ kat/l)	SD (μ kat/l)	CV (%)
Vzorka 1	1,35	0,039	2,89
Vzorka 2	2,96	0,046	1,57

POROVNANIE S KOMERČNE DOSTUPNOU METÓDOU

Lineárna regresia:

N = 40

r = 0,989

y = 1,012 x + 0,030 μ kat/l

INTERFERENCIE

Nasledujúce analyty neinterferujú:

hemoglobín do 5 g/l, bilirubín do 40 mg/dl, triglyceridy do 1000 mg/dl.

BEZPEČNOSTNÉ CHARAKTERISTIKY

Určené na in vitro diagnostické použitie oprávnenou a profesionálne spôsobilou osobou. Činidlá súpravy nie sú klasifikované ako nebezpečné.

PRVÁ POMOC

Pri náhodnom požití vypláchnuť ústa a vypiť asi 0,5 l vody, pri vniknutí do oka vykonať rýchly a dôkladný výplach prúdom čistej vody. Pri postriekaní umyť pokožku teplou vodou a mydlom. Vo vážnych prípadoch poškodenia zdravia vyhľadať lekársku pomoc.

NAKLADANIE S ODPADMI

Všetky spracované vzorky je nutné považovať ako potenciálne infekčné a spolu s prípadnými zvyškami činidiel ich likvidovať podľa vlastných interných predpisov ako nebezpečný odpad v súlade so Zákonom o odpadoch.

Papierové a ostatné obaly sa likvidujú podľa druhu materiálu ako triedený odpad (papier, sklo, plasty).

POSTUP MERANIA

Vinová dĺžka: 405 (400–420) nm

Kyveta: 1 cm

Teplota: 37 °C

Objemový pomer sérum/reakčná zmes 1/51

Objem pracovných roztokov a vzorky je možné meniť, pre garanciu analytických parametrov však ich vzájomný pomer musí byť zachovaný.

Dvojureagenčná metóda – štart substrátom

	Reagenčný blank	Kalibrátor	Vzorka
Činidlo 1	0,800 ml	0,800 ml	0,800 ml
Vzorka	-	-	0,020 ml
Kalibrátor	-	0,020 ml	-
Destilovaná voda	0,020 ml	-	-
Premieša sa a po inkubácii 1 min (37°C) sa pridá:			
Činidlo 2	0,200 ml	0,200 ml	0,200 ml

Premieša sa a zmeria sa počiatočná absorbancia po 2 minútach od pridania činidla 2 (pri 37 °C). Meria sa zmena absorbancie presne po 1, 2 a 3 minútach. Vypočíta sa zmena absorbancie za 1 minútu (ΔA).

Jednoreagenčná metóda – štart vzorkou

	Reagenčný blank	Kalibrátor	Vzorka
Pracovný roztok	1,00 ml	1,00 ml	1,00 ml
Vzorka	-	-	0,020 ml
Kalibrátor	-	0,020 ml	-
Destilovaná voda	0,020 ml	-	-

Premieša sa a zmeria sa počiatočná absorbancia po 2 minútach od pridania činidla 2 (pri 37 °C). Meria sa zmena absorbancie presne po 1, 2 a 3 minútach. Vypočíta sa zmena absorbancie za 1 minútu (ΔA).

VÝPOČET

$$1. \text{ alfa-amyláza } (\mu\text{kat/l}) = \frac{\Delta A_{\text{vz}}}{\Delta A_{\text{kali}}} \times C_{\text{kali}} \quad C_{\text{kali}} = \text{koncentrácia kalibrátora}$$

2. V prípade kalibrácie pomocou kalibračného faktoru prostredníctvom molárnej absorbancie: alfa-amyláza (μ kat/l) = f x ΔA /min.

f = faktor:

405 nm	Sérum/plazma	Moč
Štart substrátom	94,5	187,5
Štart sérom	75,9	150,3

POZNÁMKA

Sliny a pokožka obsahuje α -amylázu, preto nikdy nepipetujte činidlá ústami a zabraňte kontaminácii vzoriek a činidiel. Dokonca stopová kontaminácia môže ovplyvniť výsledky.

Aplikácie na automatické analyzátory sú dodávané na vyžiadanie.



Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erba.com, www.erbalachema.com

N/112/23/E/INT

Dátum revízie: 24. 5. 2023

АМИЛАЗА 250

Кат. №	Назва	Фасування
BLT00007	АМИЛАЗА 250	R1: 4 x 50 мл, R2: 1 x 50 мл



Застосування

Набір реагентів для *in vitro* визначення альфа-амілази у сироватці і плазмі крові, а також у сечі людини.

Клінічне значення

Альфа-амілаза у організмі людини може мати різне походження: панкреатична амілаза синтезується підшлунковою залозою і виходить у кишковий тракт, слинна амілаза синтезується у слинних залозах і секретується в слину.

Альфа-амілаза каталізує гідроліз α-1-4-глікозидних зв'язків крохмалю і інших споріднених полісахаридів аж до мальтози і інших олігосахаридів. Фермент альфа-амілаза - порівняно невелика молекула, що швидко виводиться нирками та видаляється із сечею. Таким чином, підвищення активності альфа-амілази у сироватці спричиняє підвищення рівня альфа-амілази у сечі.

Активність альфа-амілази у сироватці має велике значення для диференційної діагностики гострого або хронічного панкреатиту. Активність альфа-амілази найчастіше визначається для діагностики гострого панкреатиту, коли її рівень у сироватці сильно підвищується. В ході перебігу гострого панкреатиту альфа-амілаза зростає приблизно через 4 години після початку больових відчуттів, досягає максимального значення через 12 годин і залишається завищеною протягом 5 днів.

Не панкреатичними причинами росту активності амілази у сироватці є паротит, рак слинних залоз або бронхів, непрохідність кишківника, перитоніт, діабетичний кетоацидоз, алкогольна інтоксикація, гострий апендицит, сечові камені, перфорація пептичної виразки, патологія біліарного тракту, розрив труб під час позаматкової вагітності. Активність амілази у сироватці також збільшується приблизно вдвічі при нирковій недостатності. Тому для підтвердження гострого панкреатиту необхідно додатково визначати вміст ліпази.

Принцип методу

У якості субстрату для визначення активності альфа-амілази використовується 4,6-етиліден-4-нітрофеніл-D-мальтогептаозид. Під дією альфа-амілази внутрішня частина ланцюга субстрату розщеплюється із утворенням нітрофенілмальтогептаозидів, які внаслідок впливу α-глюкозидази гідролізуються до глюкози і забарвленого жовтим кольором п-нітрофенолу, що має максимум поглинання на 405 нм. Збільшення поглинання є прямо пропорційним активності альфа-амілази у зразкові.

Склад реагентів

R1	
Буфер Гудса рН 7,10	125 ммоль/л
Натрію хлорид	62,5 ммоль/л
Магнію хлорид	12,5 ммоль/л
α-Глюкозидаза	>42 мккат/л

R2	
Буфер Гудса рН 7,10	500 ммоль/л
4,6-етиліден-4-нітрофеніл-мальтогептаозид	8 ммоль/л

Приготування реагентів

Реагенти рідкі, готові до використання.

Зберігання і стабільність

Двореагентний метод (старт із субстратом)

Реагенти R1 і R2 рідкі, готові до використання.

Реагенти є стабільними до вичерпання вказаного терміну придатності за умови зберігання за температури 2–8 °С.

Після відкриття реагенти є стабільними до вичерпання вказаного терміну придатності за умови зберігання при 2–8 °С, у щільно закритих флаконах, із запобіганням випаровування і контамінації реагентів.

Монореагентний метод (старт із зразком)

Ретельно перемішати реагенти R1 і R2 у співвідношенні 4:1.

Готовий робочий розчин є стабільним за температури 15–25 °С протягом 4 тижнів, за умови зберігання у затемненому місці. При зберіганні за температури 2–8 °С у затемненому від дії світла місці робочий розчин є стабільним протягом 6 місяців.

Зразки

Сироватка, гепаринізована плазма або плазма з ЕДТА, сеча. Дослідження проводить у відповідності до протоколу NCCLS (або аналогів).

Стабільність

у сироватці / плазмі:

8 тижнів при 4–8 °С

у сечі:

26 тижнів при 4–8 °С

Забруднені реагенти не використовувати.

Калібрування

Для калібрування рекомендоване використання калібратора ЛІО КАЛ КАЛІБРАТОР, кат. номер BLT00069.

Контроль якості

Для проведення контролю якості рекомендоване використання контрольних сироваток ЛІО ГУМ Н контроль (кат. номер BLT00070) і ЛІО ГУМ П контроль (кат. номер BLT00071).

Коефіцієнт перерахунку

Од/л x 0,017 = мккат/л

Нормальні величини

Сироватка / Плазма (37 °С): До 1,67 мккат/л (100 Од/л)

Сеча: До 8,35 мккат/л (492 Од/л)

Наведені значення слід вважати орієнтовними. Кожна лабораторія самостійно встановлює діапазони нормальних значень.

Параметри реагентів

Наведені значення отримувалися на автоматичних аналізаторах серії ERBA XL і можуть відрізнятися від отриманих на інших типах аналізаторів.

Робочі характеристики

Чутливість: 0,16 мккат/л (9,41 UI/л)

Лінійність: до 36 мккат/л (2118 UI/л)

Діапазон вимірювання: 0,16–36 мккат/л (9,41 – 2118 UI/л)

Відтворюваність

Внутрішньосерійна	N	Середньоарифметичне значення (мккат/л)	SD (мккат/л)	CV (%)
Зразок 1	20	1,31	0,013	0,96
Зразок 2	20	3,06	0,040	1,30

Міжсерійна	N	Середньоарифметичне значення (мккат/л)	SD (мккат/л)	CV (%)
Зразок 1	20	1,35	0,039	2,89
Зразок 2	20	2,96	0,046	1,57

Порівняння методів

Порівняння проводилося на 40 зразках із використанням реагентів ERBA серії BLT АМИЛАЗА 250 (у) і наявних на ринку реагентів із комерційно доступною методикою (х).
Результати: у = 1,012 x + 0,030 мккат/л г = 0,989 (коефіцієнт кореляції)

Специфічність / Фактори впливу

Гемоглобін до 5 г/л, білірубін до 40 мг/дл, тригліцериди до 1000 мг/дл не впливають на результати визначення.

Попередження і заходи безпеки

Набір реагентів призначений для *in vitro* діагностики професійно підготовленим персоналом. Реагенти, що входять до складу набору, не містять небезпечні речовини.

Перша допомога

При потрапленні всередину прополоскати рот водою і випити 0,5 л води. При потрапленні в очі швидко промити їх проточною водою. При потрапленні на шкіру промити теплою водою з милом. У всіх серйозних випадках необхідно звернутися до лікаря.

Утилізація використаних матеріалів

Всі зразки мають розглядатися як потенційно інфіковані і разом з іншими реагентами підлягають знищенню у відповідності до діючих правил для даного виду матеріалів. Паперова упаковка і інші пакувальні матеріали (папір, скло, пластик) підлягають утилізації й переробці як сортоване сміття.

Аналіз

Проведення аналізу

Довжина хвилі: 405 (400-420) нм

Оптичний шлях: 1 см

Температура: 37 °С

Об'єми зразків і реагентів можуть бути змінені із збереженням співвідношення реагент / зразок



Двореагентний метод (старт із субстратом)

	Бланк реагенту	Калібратор	Зразок
Реагент 1	0,800 мл	0,800 мл	0,800 мл
Зразок	-	-	0,020 мл
Калібратор	-	0,020 мл	-
Дистильована вода	0,020 мл	-	-
Перемішати, інкубувати протягом 1 хв. Додати:			
Реагент 2	0,200 мл	0,200 мл	0,200 мл

Після додавання реагенту 2 перемішати, через 2 хвилини виміряти поглинання при 37 °С. Знову виміряти поглинання точно через 1, 2 і 3 хвилини. Після вимірювань розрахувати середню зміну поглинання за хвилину (ΔA/ хв).

Монореагентний метод (старт із зразком)

	Бланк реагенту	Калібратор	Зразок
Робочий реагент	1,000 мл	1,000 мл	1,000 мл
Зразок	-	-	0,020 мл
Калібратор	-	0,020 мл	-
Дистильована вода	0,020 мл	-	-

Після додавання реагенту 2 перемішати, через 2 хвилини виміряти поглинання при 37 °С. Знову виміряти поглинання точно через 1, 2 і 3 хвилини. Після вимірювань розрахувати середню зміну поглинання за хвилину (ΔA/хв).

Розрахунки

Розрахувати активність альфа-амілази у зразкові, використовуючи:

1. Калібратор

$$\text{Альфа-амілаза (Од/л; мккат/л)} = C_{\text{кал}} \times \frac{\Delta A_{\text{зр}}}{\Delta A_{\text{кал}}}$$

C_{кал} = значення активності альфа-амілази в калібраторі

2. Фактор:

альфа-амілаза = Ф x ΔA/хв

Ф – фактор перерахунку, див. таблицю нижче (мккат/л та Од/л)

405 нм	Сироватка/Плазма	Сеча
Старт із субстратом	94,5	187,5
Старт із зразком	75,9	150,3

405 нм	Сироватка/Плазма	Сеча
Старт із субстратом	5559	11029
Старт із зразком	4465	8841

Примітка:

Слина і шкіра містять альфа-амілазу, тому слід уникати піпетування реагентів ротом і контакту реагентів із шкірою. Навіть слідові кількості можуть спотворити результати аналізу.

Протоколи з параметрами аналізу на автоматичних аналізаторах надаються за запитом.

UA Уповноважений представник в Україні:
ТОВ „ЕРБА ДІАГНОСТИКС УКРАЇНА“
01042, Київ, вул. ЮННА ПАВЛА II, буд. 21, офіс 401
тел. +38-050-4483456
ukraine@erbamannheim.com



Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erba.com, www.erbamannheim.com






N/112/23/E/INT

Дата проведення контролю: 24. 5. 2023

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА / ЛІТЕРАТУРА / LITERATURA / LITERATÚRA

1. J. Clin. Chem Clin Biochem 1989, 27:97-10
2. J Clin Chem Clin Biochem 1989,27: 103-13
3. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1999, p. 689-98.

USED SYMBOLS / ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ СИМВОЛЫ / ВИКОРИСТАНІ ПОЗНАЧКИ POUŽITÉ SYMBOLY

REF Catalogue Number Каталожный номер Каталожний номер Katalogové číslo Katalógové číslo	 Manufacturer Производитель Виробник Výrobce Výrobca	 See Instruction for Use Перед использованием внимательно изучайте инструкцию Перед використанням уважно вивчіть інструкцію Čtěte návod k použití Čítajte návod k použitiu
LOT Lot Number Номер партии Номер партії Číslo šarže	IVD In Vitro Diagnostics Ин витро диагностика In vitro diagnostika In vitro diagnostikum	 Storage Temperature Температура хранения Температура зберігання Teplota skladování Teplota skladovania
 Expiry Date Срок годности Термін придатності Datum expirace Dátum expirácie	CONT Content Содержание Вміст Obsah	 Национальный знак відповідності для України

QUALITY SYSTEM CERTIFIED
ISO 13485

 Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erba.com, www.erbamannheim.com

N/112/23/E/INT

Date of revision: 24. 5. 2023