



DAC-SpectroMed s.r.l.

MD-2012, Moldova, г. Кишинев, ул. Армянская, 47, кв. 64
Тел.: /+37322/ 574900, 574922/23; факс: /+37322/ 574920

Email: office@dacspectromed.com
www.dacspectromed.com

PT MD 11-38623324-002:2002

Amylo-DAC

α-АМИЛАЗА В КРОВИ И МОЧЕ
АМИЛОКЛАСТИЧЕСКИЙ МЕТОД КАРАВЕЯ

Только для диагностики «in vitro»

Хранить при 2-8°C

Код 2015A200 200 мл

ПРИНЦИП МЕТОДА

α-Амилаза гидролизует крахмал с образованием конечных продуктов, не дающих цветной реакции с иодом. Избыток крахмала, взаимодействуя с иодом, образует окрашенный комплекс. Активность α-амилазы оценивается по уменьшению интенсивности окраски раствора, измеренной при длине волны 630-670 nm.

СОСТАВ НАБОРА

Reagent A	40 mg	
Крахмал растворимый		40 mg
Reagent B	7,56 g, при растворении:	
Натрий фосфорнокислый двузамещ.		0,2 mol/l
Бензойная кислота		0,07 mol/l
Reagent C	10 ml	
Иод		0,1 n

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

Реагенты стабильны при 2-8°C до срока, указанного на этикетке.

Субстратно-буферный раствор стабилен 1 месяц при 18-22°C.

Рабочий Reagent C стабилен в течение 1 суток при 18-22°C.

ОБРАЗЦЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сыворотка, плазма, моча.

α-Амилаза в сыворотке, плазме и моче стабильна 5 дней при 2-8°C.

В качестве антикоагулянта рекомендуется использовать гепарин.

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Сыворотка крови - 16 - 30 г/л x h. **Моча** - 28 - 160 г/л x h.

Данные величины ориентировочны, рекомендуется определение собственных референтных значений в каждой лаборатории.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для контроля хода реакции и процедуры измерения рекомендуется использовать нормальные и патологические **контрольные сыворотки**. Каждая лаборатория должна установить собственную внутреннюю систему контроля качества.

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

Анализатор, спектрофотометр или фотометр с фильтром 630-670 nm. Термостат 37°C.

Дозаторы на 10 µl, 0,50 ml и 4,0 ml.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор предназначен только для диагностики in vitro.

Образцы крови пациентов должны рассматриваться как потенциально опасные и обрабатываться как инфекционные.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧИХ РЕАГЕНТОВ

Субстратно-буферный раствор:

Содержимое флакона с Reagent B количественно перенести в емкость из термостойкого стекла с 80 ml дистиллированной воды. Растворить при нагревании и довести до кипения.

Содержимое флакона с Reagent A (навеска крахмала) суспензировать в небольшом количестве (3-5 ml) холодной дистиллированной воды и при постоянном перемешивании количественно перенести в кипящий раствор с Reagent B. Прокипятив 1 min, охладить, довести дистиллированной водой до объема 100 ml и перемешать. Хранить в плотно закупоренном виде.

Рабочий Reagent C: Reagent C разбавить дистиллированной водой в соотношении: 1 ml Reagent C + 9 ml дистиллированной воды.

ПРОЦЕДУРА ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Метод: конечная точка
Длина волны: 630-670 nm
Температура: 37°C
Установка нуля: по дистиллированной воде

1. Внесите в маркированные пробирки:

Бланк	Образец
--------------	----------------

Субстратно-буферный раствор 0,50 ml 0,50 ml
2. Содержимое пробирок инкубируйте в течение 5 минут в термостате при 37(±1)°C.

3. Внесите в маркированные пробирки:

Бланк	Образец
--------------	----------------

Образец - 0,01 ml
4. Включите секундомер в момент внесения образца в субстратно-буферный раствор. Содержимое пробирок инкубируйте точно 5,0 минут в термостате при 37(±1)°C.

5. Внесите в маркированные пробирки:

Бланк	Образец
--------------	----------------

Рабочий Reagent C 0,5 ml 0,5 ml
Вода дистиллированная 4,0 ml 4,0 ml
6. Измерьте абсорбцию **Образец** и **Бланк** относительно дистиллированной воды при 630-670 nm.

При использовании *кувет* *иного объема* *рекомендуется пропорционально изменить объемы компонентов.*

ВЫЧИСЛЕНИЯ

Активность α-амилазы в образце в g расщепленного крахмала на 1 L сыворотки за 1 час (h) инкубации при 37(±1)°C рассчитайте по формуле:

$$K_0 = \frac{A_k - A_0}{A_k} \times 240$$

где:

K_0 - активность α-амилазы образца, g/L x h;

A_k - абсорбция контрольной пробы;

A_0 - абсорбция опытной пробы;

240 = 0,2 x 1200 (0,2 - количество крахмала (mg), внесенного в опытную и контрольную пробы);

1200 = 100 x 12 (100 - коэффициент пересчета на количество крахмала в g, гидролизованного 1 L сыворотки, 12 - коэффициент пересчета с 5 min на 1 час).

$$1 \text{ g/l } \times \text{ h} = 1 \text{ mg/ml } \times \text{ h} = 0,278 \text{ mg/l } \times \text{ c};$$

$$1 \text{ mg/l } \times \text{ c} = 3,6 \text{ mg/ml } \times \text{ h} = 3,6 \text{ mg/ml } \times \text{ h}$$

МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Предел чувствительности: 10,8 г/л x h.

Предел линейности: 130 г/л x h. При более высокой концентрации разведите образец дистиллированной водой в соотношении 1/5 и повторите измерение.

Воспроизводимость (от периода к периоду): коэффициент вариации < 7 %.

Интерференция: Гемолиз не влияет на результат. Слюна и кожа содержат α-амилазу. Не пипетируйте ртом и избегайте контакта кожи с реагентом³.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

α-Амилаза катализирует гидролиз α-1,4-связи молекул α-D-глюкозы. В результате образуются декстраны, мальтоза и молекулы глюкозы. α-Амилаза вырабатывается экзокринной частью поджелудочной железы (P-тип) и слюнными железами (S-тип), обнаруживается она и в других тканях организма. Оценка активности амилазы в сыворотке и моче широко применяется для диагностики заболеваний поджелудочной железы. Увеличение активности α-Амилазы высокоспецифично при острых и хронических панкреатитах. Помимо этого, гиперAMILаземия может быть вызвана почечной недостаточностью, острыми состояниями брюшной полости, опухолями легких и яичников, патологией слюнных желез, макроамилаземией, кетоацидозом, заболеваниями желчевыводящих путей, травмой мозга, хроническим алкоголизмом и потреблением опиаатов^{4,5}.

Снижение активности α-амилазы указывает на экзогенную недостаточность поджелудочной железы при атрофии ацинарной ткани и фиброзе органа у больных, длительно страдающих данным заболеванием.



DAC-SpectroMed s.r.l.

MD-2012, Moldova, or. Chisinau, str. Armenească 47, ap. 64
Tel.: /+37322/ 574900, 574922/23; fax: /+37322/ 574920

Email: office@dacspectromed.com
www.dacspectromed.com

PT MD 11-38623324-002:2002

Amylo-DAC

α-АМИЛАЗА В СЕРИ И УРИНА
АМИЛОКЛАСТИЧЕСКИЙ МЕТОД КАРАВЕЯ

Numai pentru diagnosticare «in vitro»

А се păstra la 2-8°C

Код 2015A200 200 ml

ПРИНЦИП МЕТОДЕИ

α-Амилаза hidrolizează amidonul formind un produs final care în reacție cu iodul nu formează produs colorat.

Surplusul de amidon reacționează cu iodul formind un complex colorat. Activitatea α-amilazei se va aprecia în dependentă de diminuarea intensității de colorare, măsurată la 630-670 nm.

COMPONENȚA SETULUI

Reagent A	40 mg	
Amidon solubil		40 mg
Reagent B	7,56 g, la diluare:	
Hidrogenofosfat de sodiu		0,2 mol/l
Acid benzoic		0,07 mol/l
Reagent C	10 ml	
Iod		0,1 n

PĂSTRAREA ȘI STABILITATEA REAGENȚILOR

Reagenții sunt stabili la 2-8°C pină la data indicată pe etichetă.

Substrat soluție - tampon este stabilă la 18-22°C timp de o lună.

Reagent C de lucru este stabil la 18-22°C 24 ore.

PROBE

Ser, plasmă, urină.

α-Amilaza în ser, plasmă și urină este stabilă la 2-8°C 5 zile.

În calitate de anticoagulant se recomandă de utilizat heparina.

VALORI DE REFERINȚĂ

Ser - 16 - 30 g/l x h. Urină - 28 - 160 g/l x h.

Aceste valori sunt orientative. Se recomandă stabilirea diapazonului de referință în laboratorul dat

CONTROLUL CALITĂȚII

Pentru controlul mersului reacției și a procedurii de măsurare se recomandă de folosit seruri normale și patologice pentru control. Se recomandă stabilirea sistemului intern de control în laboratorul dat.

ECHIPAMENT ADIȚIONAL

Analizor, spectrofotometru sau fotometru cu filtru 630-670 nm. Termostat 37°C.

Dozatoare 10 µl, 0,50 ml și 4,0 ml.

PRECAUȚII

Setul este destinat numai pentru diagnosticare în vitro

Probele pacienților vor fi considerate ca material potențial contagios și se vor prelucra analogic celor contagioase

PREPARAREA REAGENȚILOR DE LUCRU

Substrat-soluție tampon:

Conținutul flaconului cu Reagent B se va trece cantitativ într-un vas din sticlă termostabilă în care se va adăuga în prealabil 80 ml apă distilată. Se va dizolva la încălzire și se va aduce la fierbere.

Conținutul flaconului cu Reagent A (amidon) se va suspenda într-o cantitate mică (3-5 ml) de apă distilată rece. Se va adăuga la soluția fierbindă de Reagent B amestecat continuu. Se va fierbe 1 minut și se va răci. Se va adăuga apă distilată pină la volumul 100 ml. Se va amesteca. Se va păstra într-un vas bine închis.

Reagent C de lucru: Conținutul flaconului cu Reagent C se va dilua cu apă distilată în raportul: 1 ml Reagent C + 9 ml apă distilată.

METODA DE LUCRU

Metoda: punct final
Lungimea de undă: 630-670 nm
Temperatura: 37°C
Instalarea zero: după apă distilată

1. Se va pipeta în eprubetele marcate:

Blanc	Proba
-------	-------

Substrat soluție-tampon 0,50 ml 0,50 ml

2. Se va incuba 5 minute la 37(±1)°C.

3. Se va pipeta în eprubete:

Blanc	Proba
-------	-------

Proba - 0,01 ml

4. Se va declanșa cronometrul din momentul pipetării probei în substrat. Se va incuba strict 5,0 min. la 37(±1)°C.

5. Se va pipeta în eprubete:

Blanc	Proba
-------	-------

Reagent C de lucru 0,5 ml 0,5 ml

Apă distilată 4,0 ml 4,0 ml

6. Se va măsura absorbția Probei și Blancului contra apei distilate la 630-670 nm.

La utilizarea cuvelor de altă capacitate (decit cele propuse) se va mări proporțional volumul componentilor amestecului:

CALCULE

Activitatea α-amilazei se va calcula în grame (g) de amidon scindat la un litru (L) de ser pe 1 oră (h), incubația la 37(±1)°C, utilizând formula:

$$K_0 = \frac{A_k - A_0}{A_k} \times 240$$

În care:

K_0 - activitatea α-amilazei în probă, g/L x h;

A_k - absorbția probei de control;

A_0 - absorbția probei;

240 = 0,2 x 1200 (0,2 - cantitatea de amidon (mg), adăugată la probă analizată și proba de control);

1200 = 100 x 12 (100 - coeficient recalculat pentru cantitatea de amidon în g, hidrolizat în 1 L ser, 12 - coeficient recalculat de la 5 minute pină la 60 minute).

$$1 \text{ g/l } \times \text{ h} = 1 \text{ mg/ml } \times \text{ h} = 0,278 \text{ mg/l } \times \text{ c};$$

$$1 \text{ mg/l } \times \text{ c} = 3,6 \text{ mg/ml } \times \text{ h} = 3,6 \text{ mg/ml } \times \text{ h}$$

CARACTERISTICI METROLOGICE

Limita sensibilității: 10,8 g/l x h.

Limita linearității: 130 g/l x h. Pentru valori mai ridicate proba se va dilua cu apă distilată în raportul 1:5 și se va repeta măsurarea.

Coefficientul de variație: < 7 %.

Interferențe: Hemoliza nu influențează rezultatul. Saliva și pielea conțin α-amilază. Se va evita contactul reagentului cu pielea. Pipetarea orală este inadmisibilă³.

CARACTERISTICI DIAGNOSTICE

α-Amilaza catalizează hidroliza legăturii α-1,4 din moleculele de α-D-glucoză formind decstran, maltoză și molecule de glucoză.

α-Amilază se produce în porțiunea exocrină a pancreasului (tip-P) și glandele salivare (tip-S), se depistează și în alte țesuturi a organismului.

La diagnosticarea bolilor pancreasului se va ține cont de activitatea α-amilazei în ser și urină. În cazul pancreatitelor acute și cronice activitatea α-amilazei este mai înaltă. Hiperamilazemia poate fi provocată de insuficiență renală, boli acute în cavitatea abdominală, tumoarea plămînilor și ovarelor, patologii ale glandelor salivare, macro- amilozemie, cetaacitoză, boli ale căilor de secreție biliară, traumatism cerebral, alcoolism cronic și administrarea opiaceelor^{4,5}. Diminuarea activității α-amilazei indică la insuficiența exogenă a pancreasului în cazul atrofiei țesutului acinar și fibrozei organelor la bolnavi, care suferă de aceste maladii o perioadă mai îndelungată.



DAC-SPECTROMED SRL

47, Armeneasca, str., apt. 64, Chisinau MD-2012 Moldova

Tel.: /+37322/ 574900,574922/23; fax: /+37322/ 574920

Email: office@dacspectromed.com

www.dacspectromed.com

PT MD 11-38623324-002:2002

Amylo-DAC

α -AMYLASE FOR SERUM AND URINE
AMYLOCLASTIC METHOD BY KARAVEY

For «in vitro» diagnostic use only
Store at 2-8°C

Cod 2015A200 200 ml

PRINCIPLE

α -amylase catalyzes hydrolysis of starch and forms end products that do not form coloration with iodine.

Excess of starch reacts with iodine and form colored complex.

α -amylase activity is judge by decreasing of intensity of coloration, measured at 630-670 nm.

CONTENTS AND COMPOSITION

Reagent A	40 mg
Water-soluble starch	
Reagent B	7,56 g, при растворении:
Sodium phosphate	0,2 mol/l
Benzoic acid	0,07 mol/l
Reagent C	10 ml
Iodide	0,1 n

STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

Reagents are stable up to the indicated expiry date if stored at 2-8°C.

Substrate-buffer solution is stable 1 month at 18-22°C.

Working Reagent C is stable 24 hours at 18-22°C.

SAMPLES

Serum, plasma and urine.

α -amylase in serum, plasma and urine is stable 5 days at 2- 8°C.

Heparin is recommended as anticoagulant.

REFERENCE VALUES

Serum: 16 - 30 g/l-hour Urine: 28 - 160 g/l-hour

These ranges are given for orientation only; each laboratory should establish its own reference ranges.

QUALITY CONTROL

It is recommended to use the Sera N and Sera P to verify the performance of the measurement procedure.

Each laboratory should establish its own internal Quality Control

ADDITIONAL EQUIPMENT

Analyzer, spectrophotometer, photometer able to read at 630-670 nm. Thermostat at 37°C.

Pipette for 10 μ l, 0,50 ml and 4,0 ml.

PRECAUTION

For in vitro diagnostics only.

Handle all patients' samples as potentially dangerous and treat as infectious. Precautions established for work with caustic and toxic substances should be observed while using the reagents.

REAGENT PREPARATION

Substrate-buffer solution:

Content of Reagent B bottle transfer quantitatively in the thermostable flask and add 80 ml of distilled water.

Dissolve under heating and bring to boil.

Content of Reagent A bottle mix with 3-5 ml of cool distilled water and insert in boiling Reagent B under constant mixing.

Boil during 1 minute, cool off, add distilled water up to 100 ml and mixed well. Store tightly closed.

Working Reagent C:

To dissolve Reagent C in distilled water in 10 times:

1 ml Reagent C + 9 ml of distilled water.

PROCEDURE

Assay conditions

Method:	end point
Wavelength :	630-670 nm
Light path:	1 cm
Temperature :	37°C
Blank:	distilled water

1. Pipette into labeled test tubes:

	Control	Test
Substrate-buffer solution, ml	0.50	0.50

2. Incubate 5 minutes at 37°C in thermostat.

Pipette into labeled test tubes:

	Control	Test
Sample, ml	-	0,01

4. Start the stopwatch in the moment of sample inserting in substrate-buffer solution. Incubate exactly 5 minutes at 37°C in thermostat.

5. Pipette into labeled test tubes:

	Control	Test
Working Reagent C, ml	0.5	0.5
Distilled water, ml	4.0	4.0

6. Measured absorbencies of the Test and Control at 630-670 nm against distilled water.

If cuvettes with another working volume are used recommended proportionally change volumes of components.

CALCULATIONS

α -amylase activity in the sample in 1g of starch hydrolyzed with 1 l of serum during 1 hour of incubation at 37(\pm 1)^oC calculated as a following:

$$K_s = \frac{A_c - A_t}{A_c} \times 240$$

K_s - α -amylase activity in the sample, g/l-hour;

A_c – absorbance of the Control;

A_t – absorbance of the Test;

240 = 0,2 x 1200

0,2 – amount of starch (mg), inserting in the Control and in the Test;

1200 = 100 x 12

100 – coefficient of recalculation from 0.2 mg to 1g of starch hydrolyzed with 1 l of serum

12 – coefficient of recalculation from 5 minutes to 1 hour.

$$1 \text{ g/l } \times \text{ h} = 1 \text{ mg/ml } \times \text{ h} = 0,278 \text{ mg/l } \times \text{ c};$$

$$1 \text{ mg/l } \times \text{ c} = 3,6 \text{ mg/ml } \times \text{ h} = 3,6 \text{ mg/ml } \times \text{ h}$$

METROLOGICAL CHARACTERISTICS

Detection limit: 10,8 g/l x h.

Linearity limit: 130 g/l x h. For higher values dilute sample

with distilled water and repeat measurement.

CV: < 7 %.

Interferences:

Hemolysis doesn't interfere.

Saliva and skin content a-amylase.

Avoid contacts with skin and saliva³.

DIAGNOSTIC CHARACTERISTICS

δ -amylase catalyzes hydrolysis of δ 1,4-linkage carbohydrates which consist of δ -D-glucose molecules. As a result, dextrans, maltose and glucose molecules are formed. δ -amylase is secreted by exocrine part of pancreas (P-type) and by salivary glands (S-type), but also is found in other tissues of organism.

Measurements of amylase are used primarily in the diagnosis and treatment of the diseases of the pancreas. Amylase is found primarily in the pancreas and salivary glands. When released in the digestive tract, the enzyme hydrolyzes starch.

Amylase determinations are useful in the diagnosis of diseases of the pancreas and parotids. Elevated serum levels are associated with acute pancreatitis and other pancreatic disorders as well as mumps and bacterial parotitis. Hyperamilasemia may be caused by renal insufficiency, acute pain in abdominal cavity, lungs and ovary tumors, salivary glands injury, macroamilasemia, ketoacidosis, bile-duct disease, brain traumas, chronic alcoholism and consumption of opiates^{4,5}.

Clinical diagnosis should not be made on the findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

BIBLIOGRAPHY

1. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник. Под редакцией В.В.Меньшикова. М, Медицина, 1987.
2. Справочное пособие по клинической биохимии. А.М. Горячковский. Одесса, ОКФА, 1994.
3. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests 4th ed. AACCC Press, 1995.
4. Tietz Textbook of Clinical Chemistry 2nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994.
5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3rd ed. AACCC Press, 1997.