



Клиническая  
биохимия

105173, Москва, ул. Западная,  
д. 2, стр. 1, ООО «Агат-Мед».  
Тел.: (495) 777-41-92.  
Факс: (495) 741-25-19.  
www.agat.ru agat@agat.ru

# АЛЬФА-АМИЛАЗА АГАТ

## ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реактивов для определения активности альфа-амилазы в биологических жидкостях амилокластическим методом (по Каравею)

### НАЗНАЧЕНИЕ

Диагностический набор предназначен для количественного определения  $\alpha$ -амилазы в биологических жидкостях в клинико-диагностических и биохимических лабораториях. Набор рассчитан на 100 определений, включая контрольные и холостые, при расходе 0,5 мл субстратно-буферного раствора на один анализ.

### ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

$\alpha$ -Амилаза гидролизует крахмал с образованием конечных продуктов, не дающих цветной реакции с йодом.

При взаимодействии крахмала с йодом образуется окрашенный комплекс, оптическая плотность которого при 640 нм пропорциональна концентрации негидролизованного крахмала.

Активности  $\alpha$ -амилазы оценивают по уменьшению интенсивности окраски.

### СОСТАВ НАБОРА

1. Буферный раствор, 96 мл – 1 флакон;
2. Раствор крахмал-субстрата, 10 мг/мл, 4 мл – 1 флакон;
3. Раствор йода 0,1 Н, 10 мл – 1 флакон;
4. Раствор соляной кислоты 1 Н, 80 мл – 1 флакон.

### АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

**Линейность:** в интервале от 3,0 до 36,0 мг/(схл).

**Воспроизводимость:** коэффициент вариации – не более 10%.

**Нормальные величины:**

- в сыворотке (плазме) крови 3,3–8,9 мг/(схл);
- в моче до 44 мг/(схл);
- в дуоденальном содержимом 1,7–4,4 г/(схл).

Диапазон нормальных величин рекомендуется уточнять в каждой лаборатории.

### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Необходимо соблюдать правила техники безопасности, рекомендуемые при работе с кровью в соответствии с «Инструкцией по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебных и профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР от 17.01.91 г.

### ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

- Спектрофотометр или фотоэлектроколориметр;
- водяной термостат, поддерживающий температуру 37° С.

### АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Свежая сыворотка или ЭДТА – плазма крови. Гемолиз не влияет на активность фермента.

Свежая моча или дуоденальное содержимое, предварительно разведенное физиологическим раствором хлорида натрия в 100 раз.

## ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

1. **Субстратно-буферный раствор.** Смешать буферный раствор и раствор крахмал-субстрата в соотношении 24:1.

Субстратно-буферный раствор стабилен в течение 15 дней при температуре 2–8° С.

2. **Раствор йода** 0,01 Н. Получают разведением 0,1 Н раствора йода дистиллированной водой в 10 раз.

Раствор готовят ежедневно.

3. **Раствор соляной кислоты** 0,1 Н. Содержимое флакона с 1 Н раствором соляной кислоты разводят дистиллированной водой до объема 800 мл.

Раствор стабилен.

## ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

В пробирки вносят реактивы по следующей схеме:

Отмерить, мл	Опытная проба	Контрольная (холостая) проба
Субстратно-буферный раствор	0,50	0,50
Прогреть 5 минут при +37° С в водяном термостате; все последующие компоненты вносить в пробы, стоящие в термостате		
Образец	0,01	-
С момента внесения образца выдержать пробы точно 7,5 минут при +37° С		
Раствор соляной кислоты 0,1 Н	4,00	4,00
Образец	-	0,01
Раствор йода 0,01 Н	0,50	0,50

Определяют оптическую плотность холостой и опытной проб при 640 нм (600–700 нм, красный светофильтр) относительно дистиллированной воды в кювете с толщиной слоя 10 мм. Окраска стабильна в течение 10 мин.

Активность  $\alpha$ -амилазы выражают в миллиграммах или граммах крахмала, гидролизованного 1 л исследуемого образца за 1 с инкубации при 37° С.

### РАСЧЕТЫ

Расчет активности  $\alpha$ -амилазы производят по формуле:

$$\text{Активность, мг/(схл)} = \frac{D_x - D_o}{D_x} \times 44,4 \times K,$$

где:  $D_x$  – оптическая плотность холостой пробы;  
 $D_o$  – оптическая плотность опытной пробы;  
K – коэффициент разведения образца (если он был разведен).

$$1 \text{ мг/(схл)} = 3,6 \text{ мг/(часхмл)}; 1 \text{ мг/(часхмл)} = 0,278 \text{ мг/(схл)}$$

### УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2–8° С в течение всего срока годности.

Срок годности набора – 2 года.

**По вопросам, касающимся приобретения наборов и их качества, просим обращаться по адресу: 105173, г. Москва, ул. Западная, д. 2, стр. 1, ООО «Агат-Мед». Телефон для справок: (495) 777-41-92.**

**Инструкция составлена:** к.б.н. И.В. Смирновым – зав. лабораторией ГНЦ РАМН, В.В. Гладуном – главным технологом ООО «Агат-Мед».