



ООО «ДИАВЕТ»

142290, г. Пушкино, Московской обл.

<https://diakonvet.ru/>

[info@diakonvet.ru](mailto:info@diakonvet.ru)

# Набор биохимических реагентов для ветеринарии

## ПАНКРЕАТИЧЕСКАЯ АМИЛАЗА

### ДиаВетТест

#### НАЗНАЧЕНИЕ

ПАНКРЕАТИЧЕСКАЯ АМИЛАЗА ДиаВетТест – это набор жидких, готовых к употреблению реагентов для количественного определения панкреатической амилазы в сыворотке и плазме крови животных и птиц ферментативным методом

Набор реагентов должен использоваться квалифицированным персоналом в области ветеринарной лабораторной диагностики.

Количество определений зависит от объема фасовки реагентов и типа используемого биохимического анализатора.

#### МЕТОД

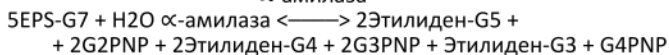
Ферментативный фотометрический тест с использованием 4,6-этилиден-(G7)-п-нитрофенил-(G1)- $\alpha$ -D-мальтогептазида (EPS-G7) в качестве субстрата.

#### ПРИНЦИП МЕТОДА

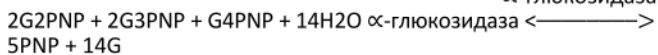
Определение активности  $\alpha$ -амилазы состоит из двух последовательных стадий. На первой стадии в процессе инкубации в присутствии двух различных моноклональных антител ингибируется активность слюнной  $\alpha$ -амилазы. На второй стадии панкреатическая  $\alpha$ -амилаза катализирует гидролиз EPS-субстрата (Ethylidene Protected Substrate) с образованием 2Этилиден-G5, 2G2PNP, 2Этилиден-G4, 2G3PNP, Этилиден-G3, G4PNP.

$\alpha$ -Глюкозидаза гидролизует все фрагменты образовавшиеся фрагменты до р-нитрофенола (PNP) и глюкозы (G). Образование PNP в процессе реакции приводит к росту оптической плотности во времени. Скорость накопления PNP прямо пропорциональна активности панкреатической  $\alpha$ -амилазы в пробе.

$\alpha$ -амилаза



$\alpha$ -глюкозидаза



(PNP = п-Нитрофенол, G = Глюкоза)

#### СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1	Good's буфер, pH 7,15	0,1 моль/л
	$\alpha$ -Глюкозидаза	$\geq 2,5$ кЕд/л
Реагент 2	NaCl	62,5 ммоль/л
	MgCl <sub>2</sub>	12,5 ммоль/л
	Моноклональные антитела против слюнной амилазы	$\geq 31,0$ мг/л
Реагент 2	Good's буфер, pH 7,15	0,1 моль/л
	EPS-G7	8,5 ммоль/л

Реагенты и калибраторы ДиаВетТест поставляются жидкими и готовыми к использованию.

#### АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Параметр	Значение
Линейность	до 2000 Е/л
Чувствительность	не более 5 Е/л

**Примечание.** Нормальные показатели для разных животных могут варьировать в широких пределах. Если значение превосходит верхний предел этого диапазона, необходимо развести образец изотоническим раствором NaCl (0,9%) в соотношении 1+10 и полученный результат умножить на 11

#### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для калибровки автоматических фотометрических систем и уточнения фактора пересчета для полуавтоматических биохимических анализаторов рекомендуем использовать

мультикалибратор TruCal U производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия). Значения калибратора прослеживаются по коэффициенту молярной экстинкции.

Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов проводите измерения контрольной сыворотки «Норма» (TruLab N) и контрольной сыворотки «Патология» (TruLab P) производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия).

Возможно использование других контрольных сывороток, аттестованных данным методом и не уступающих по своим свойствам рекомендуемому.

Калибровку рекомендуется проводить в следующих случаях: при нестабильности результатов контроля качества, в случае выхода значений контроля качества за пределы установленных диапазонов для используемого лота контрольного материала, при использовании нового лота реагента.

#### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Только для диагностики *in vitro*.

2. Остаточная активность слюнной  $\alpha$ -амилазы до 3%. В очень редких случаях крайне высокие активности слюнной  $\alpha$ -амилазы могут привести к завышенным показаниям панкреатической  $\alpha$ -амилазы. Поскольку слюна и кожа содержат  $\alpha$ -амилазу, запрещается пипетировать реагенты ртом и необходимо избегать контакта реагента с кожей.

3. В качестве консерванта реагенты содержат азид натрия (0,95 г/л). Не глотать! Избегать контакта реагентов с кожей и слизистыми оболочками.

4. Реагент 1 содержит биологический материал. Обращайтесь с реагентами как с потенциально инфекционными образцами пациентов в соответствии с универсальными методами предосторожности надлежащей лабораторной практики.

5. Предпринимать стандартные меры предосторожности при работе с лабораторными реагентами.

6. Не использовать реагенты и контроли после истечения срока годности.

#### ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

**Биреагентная схема – запуск реакции субстратом.**

Реагенты 1 и 2 готовы к использованию.

Лиофилизированный мультикалибратор TruCal U производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия) готовят согласно прилагаемой к каждому лоту инструкции.

#### ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

*Адаптации к автоматизированным системам запрашивайте дополнительно.*

Компоненты реакционной смеси отбирать в количествах, указанных в таблицах.

Отмерить, мкл*	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Сыворотка или плазма
Вода дистиллированная	20	–	–
Мультикалибратор	–	20	–
Образец	–	–	20
Реагент 1	1000	1000	1000
Перемешать, инкубировать примерно 3 мин, затем добавить:			
Реагент 2	250	250	250
Перемешать. Через 2 мин измерить оптическую плотность (A <sub>1</sub> ) и включить секундомер. Измерить оптическую плотность (A <sub>2</sub> ) через 1, 2 и 3 мин при длине волны 405 нм, при 37°C, относительно холостой пробы, в кюветках с длиной оптического пути 1 см.			

$\Delta A/\text{мин} = (A_2 - A_1)$  (образца / мультикалибратора).

**Примечание.** Количество реагентов и анализируемых образцов может быть пропорционально изменено в зависимости от объема используемой кюветы и типа используемого биохимического анализатора.



## РАСЧЕТ

### По фактору

$\Delta A / \text{мин} \times 5670 =$  Активность панкреатической амилазы [Е/л]

### По мультикалибратору

Активность панкреатической амилазы [Е/л] =  $\frac{\Delta A / \text{мин}_{\text{оп}}}{\Delta A / \text{мин}_{\text{кал}}} \times$   
x Активность панкреатической амилазы в мультикалибраторе [Е/л]

где:  $\Delta A / \text{мин}_{\text{оп}}$  – изменение оптической плотности опытной пробы в минуту, ед.опт.пл.;

$\Delta A / \text{мин}_{\text{кал}}$  – изменение оптической плотности калибровочной пробы в минуту, ед.опт.пл.

### Фактор пересчета

Панкреатическая амилаза [Е/л]  $\times 0,0167 =$  Панкреатическая амилаза [мккат/л]

## СПЕЦИФИЧНОСТЬ/ПОМЕХОУСТОЙЧИВОСТЬ

Дополнительных веществ (АЛФ), устраняющих липемичность сыворотки, не требуется. Аскорбиновая кислота до 30 мг/дл, билирубин до 40 мг/дл и липемия до 2000 мг/дл триглицеридов не влияют на точность анализа. Гемоглобин даже при минимальных концентрациях мешает определению.

## ТРАНСПОРТИРОВКА, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре 2-8°C в плотно закрытых флаконах в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности.

### Избегать загрязнений.

### Замораживание компонентов набора не допускается.

Транспортирование должно производиться с использованием крытого грузового авто, авиа, ж/д транспорта, в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре 2-8°C.

### Срок годности набора – 14 месяцев.

### Прекратить применение серии изделия по истечению срока ее годности.

При соблюдении условий хранения все компоненты набора стабильны в течение всего срока годности.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

## ТРЕБОВАНИЯ ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Набор ПАНКРЕАТИЧЕСКАЯ АМИЛАЗА ДиаВетТест не содержит взрывоопасных веществ, представляющих угрозу окружающей среде и здоровью медицинского персонала.

## УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ

Утилизацию после проведения исследования следует проводить в соответствии с местными правилами, принятыми для лабораторных отходов.

## ИЗГОТОВИТЕЛЬ

АО «ДИАКОН-ДС», 142290, Московская область, г. Пущино, ул. Грузовая, д.1а.



## ПАМЯТКА ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ

$\alpha$ -Амилаза – кальций-зависимый гидролитический фермент, расщепляющий сложные полисахариды, типа крахмала, в любом месте с образованием простых олигосахаридов, вплоть до мальтозы и глюкозы. У животных  $\alpha$ -амилаза является основным пищеварительным ферментом. Большая часть амилазы синтезируется в поджелудочной железе, печени, тонком кишечнике, почках, слюнных железах. Изофермент амилазы, характерный для поджелудочной железы, синтезируется ацинарными клетками поджелудочной железы и секретируется в кишечный тракт через систему протоков поджелудочной железы. Набор реагентов (ПАНКРЕАТИЧЕСКАЯ АМИЛАЗА ДиаВетТест) возможно использовать на различных моделях полуавтоматических и автоматических и биохимических анализаторах открытого типа.

Не допускается использование набора по истечению срока годности, указанной на упаковке!

### Показания к применению

По клинической чувствительности и специфичности диагностическая ценность исследования панкреатической  $\alpha$ -амилазы в выявлении острых панкреатитов значительно выше чувствительности общей  $\alpha$ -амилазы. Повышение уровня панкреатической  $\alpha$ -амилазы в сыворотке крови отмечается при заболеланиях поджелудочной железы различной этиологии. Понижение активности отмечается при снижении функции поджелудочной железы, острых и хронических гепатитах.

### ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА

Кат. №	Состав набора, мл	Общий объем, мл
DV 789 011	Реагент 1: 4x20 Реагент 2: 2x10	100

### Забор образцов

#### 1. Требования к квалификации персонала.

К выполнению исследований допускаются лица, прошедшие подготовку (лаборанты, ветеринарные фельдшера, ветеринарные врачи, химики и др.) по эксплуатации анализатора и методикам выполнения измерений.

#### 2. Отбор проб.

2.1. Отбор крови проводят утром, до кормления животных и проведения лечебных мероприятий. «Правила взятия патологического материала, крови, кормов и пересылки их для лабораторного исследования» утв. Минсельхоз СССР 24.06.1971.

2.2. Для отбора проб крови применяют стеклянные пробирки многообразного использования или системы взятия крови (СВК) по ГОСТ ISO 6710-2011.

#### 2.2.1. Правила взятия крови при использовании вакуумных систем:

Обязательное соответствие цвета вакуумной системы и целей исследования.

**Для биохимических исследований используются СВК с красной, желтой или оранжевой крышечкой.**

Каждая пробирка содержит определенное количество реагента для указанного на ней объема крови. Пробирки заполняются в соответствии с указанным уровнем, в пределах  $\pm 10\%$  от указанного объема.

При применении СВК с красной/желтой/оранжевой маркировкой, которые содержат активаторы свертывания с биологически инертным гелем, образующие после центрифугирования барьер, отделяющий сыворотку от форменных элементов крови, что позволяет получать образцы более высокого качества и сократить время коагуляции (указывается производителем в инструкциях по применению СВК).

**Внимание! Неправильное соотношение крови и реагента в пробе ведет к недостоверным результатам анализа.**

Сразу после заполнения пробирку необходимо аккуратно перевернуть 4–10 раз на  $180^\circ$  для смешивания крови с наполнителем. Количество перемешиваний указывается в инструкции по применению. Перемешивание необходимо проводить аккуратно, пробирку не трясти, во избежание коагуляции и гемолиза.

**Внимание! В плохо перемешанной пробе образуются микросгустки, приводящие к искажению результатов анализов, а также к поломкам лабораторных анализаторов.**

#### 3. Транспортировка.

Пробирки с кровью плотно закрываются пробками и в строго вертикальном положении в термоконтейнерах с хладагентом перемещаются в лабораторию. Время доставки не должно превышать 24 часа при температуре 2,0–8,0°C.

Следует избегать тряски во избежание развития гемолиза. Температура ниже 4°C и выше 30°C может существенно изменить содержание в образце многих анализов.

#### 4. Подготовка проб:

##### 4.1. Получение плазмы крови.

Отобранные пробы крови переливают в центрифужные пробирки и центрифугируют 20–30 минут при 2000–3000 об/мин., отделившуюся плазму переносят в чистые сухие пробирки.

При применении СВК допускается центрифугирование непосредственно в первичной пробирке, в соответствии с инструкцией к использованию.

##### 4.2. Получение сыворотки крови.

**Сыворотка крови должна быть отделена от форменных элементов не позднее 1 часа после забора материала.**

Кровь в стеклянных пробирках, в течение часа после забора, обводят тонкой спицей из нержавеющей стали диаметром 1,0–1,5 мм и ставят в термостат при температуре 37–38°C на 30 минут для окончательного отделения сыворотки. Отделившуюся сыворотку переносят в центрифужные пробирки и центрифугируют в течение 20–30 минут при 2000–3000 об/мин.

**Внимание! Исследования не проводятся при:**

- гемолизе, хилезе сыворотки (плазмы) крови (за исключением исследований, на которые наличие гемолиза, хилеза не влияет [6]).
- поступлении в СВК с несоответствующей маркировкой (то есть материал взят не с тем антикоагулянтом, консервантом и др.).
- наличии сгустков в пробах с антикоагулянтом.
- поступлении в СВК с истекшим сроком годности.

#### 5. Хранение.

Сыворотка, гепаринизированная или ЭДТА-плазма крови.

**Стабильность:**

7 дней	при 20–25°C
7 дней	при 4–8°C
1 год	при -20°C

**Загрязненные образцы хранению не подлежат!**

**Замораживать образцы можно не более одного раза!**

#### 6. Возможные причины получения недостоверных результатов:

- низкое качество дистиллированной (деионизированной) воды. Для повышения точности калибровки рекомендуется использовать высокоочищенную воду, как для приготовления контрольных сывороток, так и для самой калибровки (нулевая точка).
- недостаточно чистая посуда. Посуду следует мыть хромовой смесью или раствором 4M соляной кислоты в дистиллированной (деионизированной) воде, затем тщательно ополоснуть дистиллированной (деионизированной) водой.
- загрязнение блоков кювет. Рекомендуется регулярно проверять чистоту измерительных кювет с использованием соответствующих утилит анализатора и при необходимости проводить очистку согласно инструкции по эксплуатации на прибор.
- несоблюдение условий хранения и эксплуатации наборов, калибраторов и стандартных сывороток. Рекомендуется заменить реагенты, калибраторы, стандартные сыворотки.
- технические ошибки при программировании методов на автоматических анализаторах. Необходимо проверить соответствие параметров установленной методики с адаптациями производителя к конкретному анализатору.
- ошибки при проведении преаналитического этапа. Необходимо повторно произвести забор крови и выделение сыворотки (плазмы) с соблюдением установленных норм и правил.
- ошибки при приготовлении реагентной смеси, и нарушение соотношения реагент/образец (при работе на полуавтомате).



тических биохимических анализаторах). *Необходимо повторить смешивание.*

- недостоверные результаты при проведении контроля качества. *Необходимо провести калибровку прибора в соответствии с инструкцией по эксплуатации анализатора.*

## НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ\*

Образец	Нормальный диапазон, Ед/л
Собаки	243,6-866,2
Кошки	150,0-503,5
Лошади	...-400,0
Крупный рогатый скот (КРС)	50,0-350,0
Свиньи	65,0-180,0

\*Рекомендуем в каждой лаборатории уточнять диапазон значений нормальных величин для обследуемых животных, которые могут зависеть от различных факторов

## Возможные причины изменения уровня р-Амилазы:

### Повышение уровня р-Амилазы:

- Острый или хронический панкреатит;
- Киста поджелудочной железы;
- Опухоль в протоке поджелудочной железы;
- Холецистит;
- Хронические заболевания почек;
- Тяжелые воспалительные заболевания кишечника;
- Перитонит;
- Продолжительное применение кортикостероидов

### Понижение уровня р-Амилазы:

- Снижение функции поджелудочной железы;
- Острый и хронический гепатит.

**ВНИМАНИЕ!** Лабораторное исследование только этого параметра не является достаточным основанием для постановки диагноза, но может быть частью комплексного клинико-терапевтического обследования.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Boyd J.W. The interpretation of serum biochemistry test results in domestic animals, in Veterinary Clinical Pathology, Veterinary Practice Publishing Co., Vol. XIII, # II, 1984.
2. Кондрахин И.П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики. – М.: 2004.
3. Медведева М. А. Клиническая ветеринарная лабораторная диагностика. – М.: «Аквариум Принт», 2013–416 с.
4. Холод В.М. Справочник по ветеринарной биохимии. – В.: 2005.
5. Guder W.G., Zawta B. et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001.
6. Д. Мейер, Дж. Харви. Ветеринарная лабораторная медицина. Интерпретация и диагностика. Пер. с англ. – М.: Софион, 2007, 456 с.
7. Методические рекомендации по применению наборов реагентов «ДиаВетТест» для биохимических исследований сыворотки (плазмы) крови животных на автоматических и полуавтоматических анализаторах. – М.: ФГБУ ЦНМВЛ, Россельхознадзор, 2018.
8. I.S.I.S., Standard International Units - March 2002.

За дополнительной информацией или при рекламациях следует обращаться в ООО «ДИАВЕТ»:

142290, г. Пущино, Московской обл.

<https://diakonvet.ru/>

[info@diakonvet.ru](mailto:info@diakonvet.ru)

Рекомендовано Центральной научно-методической ветеринарной лабораторией

