



Pankreatická alfa-amyláza ET-G7PNP

Diagnostická reagencie pro kvantitativní in vitro stanovení pankreatické amylázy v lidském séru, plazmě nebo moči pomocí fotometrických systémů.

Ref. č.	Velikost kitu	Konfigurace
D00582	5 x 100 mL	4 x 100 mL R1 + 1 x 100 mL R2
D94577	5 x 50 mL	4 x 50 mL R1 + 1 x 50 mL R2
D00590	5 x 25 mL	4 x 25 mL R1 + 1 x 25 mL R2
D96568	5 x 10 mL	4 x 10 mL R1 + 1 x 10 mL R2
D56911	5 x 50 mL	4 x 50 mL R1 + 2 x 25 mL R2
D0404917	5 x 50 mL	4 x 50 mL R1 + 1 x 50 mL R2
DA0807	5 x 20 mL	4 x 20 mL R1 + 1 x 20 mL R2
DT1007	5 x 20 mL	4 x 20 mL R1 + 1 x 20 mL R2
DK0706	5 x 50 mL	4 x 50 mL R1 + 1 x 50 mL R2
DE1807	1 x 62.5 mL	1 x 50 mL R1 + 1 x 12.5 mL R2
DB20303	2 x 62.5 mL	2 x 50 mL R1 + 2 x 12.5 mL R2

Dále nabízené:

D98485	5 x 3 mL	Kalibrátor	Diacal Auto
D98485SV	1 x 3 mL	Kalibrátor	Diacal Auto
D98481	12 x 5 mL	Kontrola normální	Diacon N
D14481	5 x 5 mL	Kontrola normální	Diacon N
D98481SV	1 x 5 mL	Kontrola normální	Diacon N
D14482	12 x 5 mL	Kontrola abnormální	Diacon P
D14482	5 x 5 mL	Kontrola abnormální	Diacon P
D14482SV	1 x 5 mL	Kontrola abnormální	Diacon P

Pouze pro profesionální in vitro diagnostické použití.

OBECNÉ INFORMACE

Metoda	Kolorimetrická, kinetická, rostoucí reakce, ET-G7PNP
Životnost	24 měsíců od data výroby
Skladování	2 – 8 °C
Vlnová délka	405 nm
Optická dráha	1 cm
Teplota	37 °C
Vzorek	Sérum, EDTA nebo heparinová plazma, moč

ÚČEL POUŽITÍ

Diagnostická reagencie pro kvantitativní in vitro stanovení pankreatické amylázy v lidském séru, plazmě nebo moči pomocí fotometrických systémů.

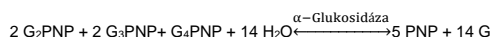
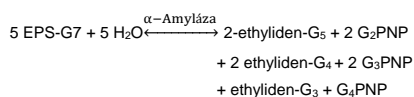
DIAGNOSTICKÝ VÝZNAM [1,2]

α -Amylázy jsou hydrolytické enzymy, které rozkládají škrob na maltózu. α -Amylázy v lidském těle pocházejí z různých orgánů: pankreatická amyláza je produkovaná pankreatem a vylučována do střevního traktu; slinná amyláza je syntetizována v slinných žlázách a vylučována do slin. Protože pankreatická a slinná amyláza vykazují 97 % strukturální homologii, mohou být spolehlivě rozlišeny pouze použitím metody založené na inhibici slinného enzymu monoklonálními protilátkami. Amyláza přítomná v krvi je odstraňována ledvinami a vylučována močí. Proto se nárůst amylázové aktivity v krvi odzrcadlí nárůstem amylázové aktivity v moči.

Stanovení α -Amylázy v séru a moči se vykonává hlavně kvůli diagnostikování onemocnění pankreatu a pro odhalení vzniku komplikací. Při akutní pankreatitidě stoupá amylázová aktivita v krvi během několika hodin od nástupu bolesti břicha, po přibližně 12 hodinách dosahuje maxima a klesá nejpозději po 5 dnech opět na hodnoty referenčního rozsahu. I když je pankreatická amyláza mnohem specifitější pro zjištění onemocnění pankreatu jako celková amyláza, doporučuje se pro potvrzení akutní pankreatitidy dodatečně stanovení lipázy.

PRINCIP TESTU

Enzymatický fotometrický test, při kterém je substrát 4,6-ethyliden-(G7)-p-nitrofenyl-(G1)- α -D-maltoheptaosid (EPS-G7) α -amylázou rozkládán na různé fragmenty. Ty jsou v dalším kroku hydrolyzovány α -glukosidázou za vzniku glukózy a p-nitrofenolu [1, 2]. Protože slinný izoenzym je selektivně inhibován během před-inkubační fázi kombinací dvou monoklonálních protilátek, představuje nárůst absorbance pouze aktivitu pankreatické amylázy ve vzorku [3-5].



(PNP = p-nitrofenol, G = glukóza)

SLOŽENÍ REAGENCIE

SLOŽKY		KONCENTRACE
Reagencie 1:		
Goodův pufr,	pH 7,15	0,1 mol/L
NaCl		62,5 mmol/L
MgCl ₂		12,5 mmol/L
α -Glukosidáza		≥ 2,5 kU/L
Monoklonální protilátky proti slinné amyláze (myší)		≥ 31 mg/L
Reagencie 2:		
Goodův pufr,	pH 7,15	0,1 mol/L
EPS-G7		8,5 mmol/L

POTŘEBNÉ, ALE NEDODÁVANÉ MATERIÁLY

- Roztok NaCl (9 g/L)
- Klinicko-chemický analyzátor

PŘÍPRAVA REAGENCIE

Reagencie jsou určeny k přímému použití.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Podmínky:	Chraňte před světlem! Po použití okamžitě uzavřete Zabraňte kontaminaci Reagencie nezamrazujte!
Skladování:	Při 2-8 °C
Stabilita:	Do uvedeného data expirace

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- Může se vyskytnout zbytková aktivita slinné α -amylázy do 3 %. Velice výjimečně mohou extrémně vysoké aktivity slinné amylázy vést ke zvýšeným hodnotám pankreatické amylázy. Nicméně sliny a pokožka obsahují α -amylázu, proto nikdy nepipetujte reagenty ústy a zabraňte styku reagentů s pokožkou.
- Reagencie obsahují jako konzervant azid sodný (0.95 g/L). Nepolykejte! Zabraňte kontaktu s pokožkou a sliznicemi.
- Reagencie 1 obsahuje zvířecí materiál. S produktem zacházejte jako s potenciálně infekčním podle obecných bezpečnostních opatření a správné laboratorní praxe.
- Ve velice výjimečných případech mohou vzorky od pacientů s gamapatií dávat falešné výsledky [10].
- Viz prosím bezpečnostní list a dodržujte nutná opatření pro práci s laboratorními reagenty.
- Pro diagnostické účely musí být výsledky vždy hodnoceny spolu se zdravotní historií pacienta, klinickými vyšetřeními a jinými zjištěními.
- Pouze pro profesionální použití!

ODBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKU

Použijte sérum, heparinovou plazmu, EDTA plazmu nebo moč.

Stabilita [8]:

V séru/plazmě:	Při 20 - 25 °C	7 dnů
	Při 4 - 8 °C	7 dnů
	Při - 20 °C	1 rok
V moči	Při 20 - 25 °C	2 dny
	Při 4 - 8 °C	10 dnů
	Při - 20 °C	3 týdny

Zamrazujte pouze jednou! Zlikvidujte kontaminované vzorky.

POSTUP TESTU

Reagencie a vzorky nechte dosáhnout pokojové teploty.

Pipetujte do zkumavek	Blank	Sérum/ Plazma	Moč
Reagencie 1	1000 μ L	1000 μ L	1000 μ L
Vzorek/Kalibrátor	-	20 μ L	10 μ L
Smíchejte, inkubujte 3 minuty při 37 °C. Potom přidejte R2:			
Reagencie 2	250 μ L	250 μ L	250 μ L
Zamíchejte. Po 2 minutách (37 °C) změřte počáteční absorbanční a spusťte stopky. Absorbanční změřte opět po přesně 1, 2 a 3 minutách.			

Automatizace

Speciální adaptace pro automatické analyzátoři mohou být vytvořeny na požádání.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Výpočet

Vypočtete $\Delta A/\text{min} = [\Delta A/\text{min Vzorku nebo Kal.}] - [\Delta A/\text{min blanku}]$ během lineární fáze reakce.

S faktorem: (1 cm světelná dráha)

Aktivita pankreatické amylázy [U/L] = $\Delta A/\text{min} \times \text{Faktor}$

Faktory (37 °C):

Sérum/plazma	5670
Moč	11250

S kalibrátorem:

Pankreatická amyláza [U/L] = $\frac{\Delta A/\text{min vzorku}}{\Delta A/\text{min kalibrátoru}} \times \text{Konc. Kalibr. [U/L]}$

Převod jednotek

Pankreatická amyláza [U/L] x 0.01667 = Pankreatická amyláza [μ katal/L]

KONTROLA KVALITY

Je možné použít všechna kontrolní séra s hodnotami pankreatické amylázy stanovenými touto metodou a s porovnatelnými koncentracemi substrátu. Doporučujeme sérové kontroly Dialab **Diacon N** (kontrolní sérum s hodnotami v normálním rozsahu) a **Diacon P** (kontrolní sérum s hodnotami v abnormálním rozsahu).

Každá laboratoř by měla zavést opravná opatření v případě odchylek při měření kontrol.

Kalibrace

Použití kalibrátorů pankreatické amylázy je volitelné. Doporučujeme multikalibrační sérum **Diacal Auto**.

CHARAKTERISTIKY ČINNOSTI

LINEARITA, ROZSAH MĚŘENÍ:

Při použití automatických analyzátorů je test určen pro stanovení aktivit pankreatické amylázy do 2000 U/L.

Při manuálním stanovení je test určen pro aktivitu pankreatické amylázy, které vykazují $\Delta A/\text{min}$ maximálně 0.350.



Když je tato hodnota překročena, je třeba vzorek zředit 1+10 roztokem NaCl (9 g/L) a výsledek vynásobit 11.

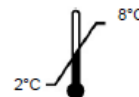
CITLIVOST/LIMIT DETEKCE

Spodní limit detekce je 5 U/L.

PRECIZNOST

V rámci analýzy n= 20	Průměr [U/L]	SD [U/L]	CV [%]
Vzorek 1	69.7	2.18	3.13
Vzorek 2	207	2.61	1.26
Vzorek 3	370	3.36	0.91

Mezi analýzami n= 20	Průměr [U/L]	SD [U/L]	CV [%]
Vzorek 1	68.3	1.48	2.17
Vzorek 2	204	1.61	0.79
Vzorek 3	371	3.14	0.85



SPECIFICITA/INTERFERENCE

Žádná interference do:

Kyselina askorbová	30 mg/dL
Bilirubin	40 mg/dL
Hemoglobin	150 mg/dL
Triglyceridy	2000 mg/dL

Pro další informace o interferujících látkách viz Young DS [9].

POROVNÁNÍ METOD

Porovnání mezi reagentii Dialab pankreatická alfa-amyláza (y) a komerčně dostupnou reagentii (x) za použití 58 vzorků poskytlo následující výsledky:
 $y = 0.97x - 1.66$ U/L; $r = 0.994$.

NÁVAZNOST

Tato metoda je návazná k molárnímu absorpčnímu koeficientu.

OČEKÁVANÉ HODNOTY [7]*

	Ženy		Muži	
	U/L	μkat/L	U/L	μkat/L
Sérum/plazma	< 53	< 0.88	< 53	< 0.88
Moč	< 319	< 5.32	< 356	< 5.93

* Každá laboratoř by si měla zkontrolovat, zda jsou referenční rozsahy přenositelné na její populaci pacientů a v případě potřeby určit vlastní referenční rozsahy.

OMEZENÍ

- Možný přenos reagentie Pankreatická alfa-amyláza (ET-G7PNP) do reagentii hořčičk (xylidylová modrá) a Celkový protein v moči/CSF (Pyrogalolová červeň). Aktuální přenos (carry-over) závisí na analyzátoru.

NAKLÁDÁNÍ S ODPADEM

Postupujte prosím podle místních právních požadavků.

LITERATURA

- Lorentz K. α-Amyláza. In: Thomas L, editor. Clinical laboratory diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 192-202.
- Moss DW, Henderson AR. Digestive enzymes of pancreatic origin. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia; W.B. Saunders Company; 1999. p. 689-98.
- Gerber M, Naujoks K, Lenz H, WUlff K. A monoclonal antibody that specifically inhibits human salivary alpha-amylase. Clin Chem 1987; 33: 1158-62.
- Kruse-Jarres JD, Kaiser C, Hafkenscheid JC, Hohenwallner W, Stein W., Bohner J et al. Evaluation of a new alpha-amylase assay using 4,6-ethyliden-(G7)-1-4-nitrophenyl-(G1)-alpha,D-maltoheptaoside as substrate. J Clin Chem Biochem 1989;27:103-13.
- Tietz NW, Burlina A, Gerhardt W, Junge W, Mafferheimer P, Mural T et al. Multicenter evaluation of a specific pancreatic isoamylase assay based on a double monoclonal-antibody technique. Clin Chem 1988; 34:2096-102.
- Junge W, Troge B, Klein G, Poppe W, Gerber M. Evaluation of a new assay for pancreatic amylase: Performance characteristics and estimation of reference interval. Clin Biochem 1989;22: 109-14.
- Junge W, Wortmann W, Wilke B, Waldenstroem J et al. Development and evaluation of assays for determination of total and pancreatic amylase at 37 °C according to the principle recommended by the IFCC. Clin Biochem 2001; 34: 607-15.
- Guder WG, Zawta B et al. The quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 16-7, 50-51.
- Young DS. Effect of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
- Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: Mechanism, detection and prevention. Clin Chem lab Med 2007; 45(9); 1240-1243.