

alfa-Amyláza mod. IFCC

Diagnostická reagentie pro kvantitativní in vitro stanovení alfa-amylázy v lidském séru, plazmě nebo moči pomocí fotometrických systémů.

Ref. č.	Velikost kitu	Obsah
D03103B	1 x 1,25 L	1 x 1 L R1 + 1 x 250 mL R2
D94570	5 x 100 mL	4 x 100 mL R1 + 1 x 100 mL R2
D94571	5 x 50 mL	4 x 50 mL R1 + 1 x 50 mL R2
D00578	5 x 25 mL	4 x 25 mL R1 + 1 x 25 mL R2
D96569	5 x 10 mL	4 x 10 mL R1 + 1 x 10 mL R2
D54911	5 x 50 mL	4 x 50 mL R1 + 2 x 25 mL R2
D0406917	5 x 62,5 mL	4 x 62,5 mL R1 + 1 x 62,5 mL R2
DA0806	5 x 20 mL	4 x 20 mL R1 + 1 x 20 mL R2
DK0705	5 x 50 mL	4 x 50 mL R1 + 1 x 50 mL R2
DT1006	5 x 20 mL	4 x 20 mL R1 + 1 x 20 mL R2
DE1806	2 x 62,5 mL	2 x 50 mL R1 + 2 x 12,5 mL R2
DB20304	4 x 62,5 mL	4 x 50 mL R1 + 4 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
D14482SV	5 x 5 mL	Kontrola abnormální	Diacon P
D14482SV	1 x 5 mL	Kontrola abnormální	Diacon P
D08581	12 x 5 mL	Močová Ctrl. normální	Diacon Urine hladina 1
D08581SV	1 x 5 mL	Močová Ctrl. normální	Diacon Urine hladina 1
D08582	12 x 5 mL	Močová Ctrl. abnormální	Diacon Urine hladina 2
D08582SV	1 x 5 mL	Močová Ctrl. abnormální	Diacon Urine hladina 2

Pouze pro profesionální in vitro diagnostické použití.

PARAMETRY TESTU

Metoda	Kolorimetrická, kinetická, rostoucí reakce, mod. IFCC
Životnost	24 měsíců
Skladování	2 – 8 °C
Vlnová délka	405 nm
Teplota	37 °C
Vzorek	Sérum, heparinová nebo EDTA plazma, moč

ÚČEL POUŽITÍ

Diagnostická reagentie pro kvantitativní in vitro stanovení alfa-amylázy v lidském séru, plazmě nebo moči pomocí fotometrických systémů.

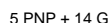
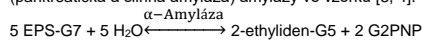
DIAGNOSTICKÝ VÝZNAM [1, 2]

α-Amylázy jsou hydrolytické enzymy, které rozkládají škrob na maltózu. α-Amylázy v lidském těle pocházejí z různých orgánů: pankreatická amyláza je produkována pankreatem a vylučována do střevního traktu. Slinná amyláza je syntetizována v slinných žlázách a vylučována do slin. Amyláza 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 využívá hlavně kvůli diagnostikování onemocnění pankreatu a pro zjištění 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 nejpozději po 5 dnech opět na hodnoty referenčního rozsahu. Specifita α-amylázy pro poruchy pankreatu není velmi vysoká, protože její zvýšené hladiny je možné naměřit i při různých ne-pankreatických onemocněních, např. parotitidě a renální nedostatečnosti. Proto je třeba pro potvrzení akutní pankreatitidy vykonat dodatečné stanovení lipázy.

PRINCIP TESTU

Enzymatický fotometrický test, při kterém je substrát 4,6-ethyliden-(G7)-p-nitrofenyl-(G1)-α-D-maltoheptaosid (EPS-G7) α-amylázami rozkládán na různé fragmenty. Ty jsou v dalším kroku hydrolyzovány α-glukosidázou za vzniku glukózy a p-nitrofenolu [1, 2]. Nárůst absorpance představuje aktivitu celkové (pankreatická a slinná amyláza) amylázy ve vzorku [3, 4].



(PNP = p-nitrofenol, G = glukóza)

SLOŽENÍ REAGENCIE

SLOŽKY	KONCENTRACE
Reagentie 1:	
Goodův pufr, pH 7.15	0.1 mol/L
NaCl	62.5 mmol/L
MgCl ₂	12.5 mmol/L
α-Glukosidáza	≥ 2 kU/L
Reagentie 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

Start substrátem:

Reagentie jsou připravené k použití.

Start vzorkem:

Smíchejte 4 díly reagentie 1 s 1 dílem reagentie 2 (= pracovní reagentie)

STABILITA REAGENCIE A SKLADOVÁNÍ

Podmínky: Chraňte před světlem!
 Po použití okamžitě uzavřete
 Zabraňte kontaminaci
 Reagentie nezmrazujte!

Start substrátem:

Skladování: Při 2 - 8 °C

Stabilita: Do uvedeného data expirace

Start vzorkem:

Stabilita: Při 2 - 8 °C 6 měsíců
 Při 15 - 25 °C 4 týdny
 Chraňte před světlem!

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Sliny a pokožka obsahují α-amylázu. Proto reagentie nikdy nepipetujte ústy a vyhýbejte se styku pokožky s reagentií.
2. Reagentie obsahují jako konzervant azid sodný (0.95 g/L). Nepolykejte! Zabraňte kontaktu s pokožkou a sliznicemi.
3. Reagentie 1 obsahuje zvířecí materiál. S produktem zacházejte jako s potenciale infekčním, podle obecných bezpečnostních opatření a správné laboratorní praxe.
4. Ve velice výjimečných případech mohou vzorky od pacientů s gamapati dávat falešné výsledky [8].
5. Viz prosím bezpečnostní list a dodržujte nutná opatření pro práci s laboratorními reagentiemi.
6. Pro diagnostické účely musí být výsledky vždy hodnoceny spolu se zdravotní historií pacienta, klinickými vyšetřeními a jinými zjištěními.
7. Pouze pro profesionální použití!

ODBĚR VZORKU A SKLADOVÁNÍ

Stabilita [5]:

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! Kontaminované vzorky zlikvidujte.

POSTUP TESTU

Reagentie a vzorky nechte dosáhnout pokojové teploty.

Start substrátem:

Pipetujte do zkumavek	Sérum/plazma		Moč	
	Blank	Vzorek	Blank	Vzorek
Reagentie 1	1000 µL	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Destilovaná voda	20 µL	-	10 µL	-
Vzorek/Kalibrátor	-	20 µL	-	10 µL
Smíchejte, inkubujte přibližně 1 minutu. Potom přidejte:				
Reagentie 2	250 µL	250 µL	250 µL	250 µL
Zamíchejte, po 2 minutách (37 °C) změřte počáteční absorpenci a spusťte stopky. Absorbanci změřte opět po přesné 1, 2 a 3 minutách.				

Start vzorkem:

Pipetujte do zkumavek	Sérum/plazma		Moč	
	Blank	Vzorek	Blank	Vzorek
Pracovní reagentie	1000 µL	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Reagentie 2	250 µL	250 µL	250 µL	250 µL
Destilovaná voda	20 µL	-	10 µL	-
Vzorek/Kalibrátor	-	20 µL	-	10 µL
Zamíchejte, po 2 minutách (37 °C) změřte počáteční absorpenci a spusťte stopky. Absorbanci změřte opět po přesné 1, 2 a 3 minutách.				

Automatizace

Speciální adaptace pro automatické analyzátoři mohou být vytvořeny na požádání.

INTERPRETACE VÝSLDEKŮ

Výpočet

Vypočtete $\Delta A/\text{min} = [\Delta A/\text{min vzorku nebo kal.}] - [\Delta A/\text{min blanku}]$ během lineární fáze analýzy.

S faktorem: (1 cm světelná dráha)

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

Faktory (37 °C):

	Start substrátem	Start vzorkem
Sérum/plazma	5670	4554
Moč	11250	9018



S kalibrátorem:

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

Převod jednotek

U/L x 0.01667 = $\mu\text{katal/L}$

KONTROLA KVALITY A KALIBRACE

Je možné použít všechna kontrolní séra s hodnotami alfa-amylázy stanovenými touto metodou a s použitím porovnatelných koncentrací substrátů.

Doporučujeme sérové kontroly Dialab **Diacon N** (kontrolní sérum s hodnotami v normálním rozsahu) a **Diacon P** (kontrolní sérum s hodnotami v abnormálním rozsahu) jako i Dialab močové kontroly **Diacon Urine hladiny 1** (kontrolní moč normální) a **hladiny 2** (kontrolní moč abnormální). Každá laboratoř by měla zavést opravná opatření v případě odchylek při měření kontrol.

Kalibrace

Použití kalibrátora alfa-amylázy je volitelné.
 Doporučujeme multikalibrační sérum **Diacal Auto**.

CHARAKTERISTIKY ČINNOSTI

LINEARITA, ROZSAH MĚŘENÍ:

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

Při manuálním stanovení je test vhodný pro aktivity α -amylázy, které odpovídají $\Delta A/\text{min}$ maximálně 0,35.

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

CITLIVOST/LIMIT DETEKCE

Spodní limit detekce je 3 U/L.

PRECIZNOST

V rámci analýzy n= 20	Průměr [U/L]	SD [U/L]	CV [%]
Vzorek 1	180	2.00	1.08
Vzorek 2	398	2.67	0.67
Vzorek 3	841	4.96	0.59

Mezi analýzami n= 20	Průměr [U/L]	SD [U/L]	CV [%]
Vzorek 1	180	1.82	1.01
Vzorek 2	383	3.74	0.97
Vzorek 3	817	7.48	0.92

SPECIFICITA/INTERFERENCE

Žádná interference do:

Kyselina askorbová	30 mg/dL
Billirubin	40 mg/dL
Hemoglobin	550 mg/dL
Triglyceridy	1000 mg/dL

Pro další informace o interferujících látkách viz Young DS [7].

POROVNÁNÍ METOD

Porovnání mezi reagenční Dialab alfa-amyláza (y) a doporučenou rutinní metodou [5] (x) za použití 51 vzorků poskytl následující výsledky:

$y = 0.964x - 2.455$ U/L; $r = 0.998$.

Porovnání mezi reagenční Dialab alfa-amyláza (y) a komerčně dostupným testem (x) za použití 51 vzorků poskytl následující výsledky:

$y = 1.031x - 3.613$ U/L; $r = 0.994$.

DOHLEDATELNOST

Tato metoda byla standardizována oproti původnímu IFCC složení z roku 1998.

OČEKÁVANÉ HODNOTY [6]*

	Ženy		Muži	
	U/L	$\mu\text{kat/L}$	U/L	$\mu\text{kat/L}$
Sérum/plazma	< 100	< 1.67	< 100	< 1.67
Moč	< 447	< 7.45	< 491	< 8.18

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

OMEZENÍ

- Případný přenos alfa-amylázy (mod. IFCC) na reagenční Hořčák (xylydylová modrá), oxid uhličitý (PEP-C), celkový protein v moči/CSF (pyrogalolová červen). Aktuální přenos 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.
- Kruse-Jarres JD, Kaiser C, Hafkenschied 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.
- Schumann G, Aoki R, Ferrero CA et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Clin Chem Lab Med 2006; 44(9): 1146-1155.
- Guder WG, Zawta B et al. The quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 16-7, 50-1.
- 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.
- 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.

