

Pancreatic amylase CC* FS **

Diagnostická reagentie pro kvantitativní in vitro stanovení pankreatické amylázy v séru, plazmě nebo moči fotometricky.

Katalogové číslo:

Kat. č.	Balení
1 0551 99 10 021	R1 5 x 20 mL + R2 1 x 25 mL
1 0551 99 10 023	R1 1 x 800 mL + R2 1 x 200 mL
1 0551 99 10 930	R1 4 x 20 mL + R2 2 x 10 mL

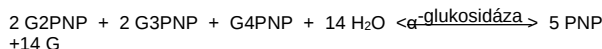
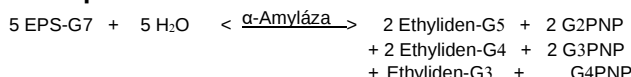
Shrnutí [1,2]

α -amylázy jsou hydrolytické enzymy, které rozkládají škrob na maltózu. V lidském těle vznikají α -amylázy v různých orgánech: pankreatickou amylázu produkuje slinivka břišní a uvolňuje ji do střevního traktu, slinná amyláza se syntetizuje ve slinných žlázách a vylučuje se do slin. Protože pankreatická i slinná amyláza mají strukturální homologii 97%, jedinou metodou, jak je rozlišit, je použití testu, který je založen na monoklonálních protilátkách, aby se inhiboval slinný enzym. Amyláza, která je přítomna v krvi, se eliminuje přes ledviny a vylučuje se do moči. Proto zvýšená sérová aktivita odráží vzestup aktivity močové amylázy. Měření pankreatické amylázy v séru a moči se aplikuje zejména u diagnóz poruch slinivky břišní a rovněž při sledování vývoje komplikací. Při akutní pankreatitidě se činnost krevní amylázy zvyšuje v průběhu několika hodin po nástupu bolestí v břišní krajině, vrcholí asi po 12 hodinách a vrací se na hodnoty referenčního rozpětí nejpozději do pěti dnů. I když pankreatická amyláza je mnohem specifičtější při stanovení poruch pankreatu než celková amyláza, doporučuje se ještě dodatečné změření lipázy, za účelem potvrzení akutní pankreatitidy.

Metoda

Enzymatické fotometrické stanovení, ve kterém je substrát 4, 6-ethyliden-(G7)-4-nitrofenyl-(G1)-D-maltoheptaosid (EPS-G7) štěpen * - amylázou na různé fragmenty. Ty jsou v druhém kroku hydrolyzovány *glukosidázou za vzniku glukózy a 4-nitrofenolu. Slinný izoenzym je selektivně inhibován pomocí kombinace dvou monoklonálních protilátek v průběhu preinkubační fáze. Nárůst absorbance představuje aktivitu pankreatické amylázy ve vzorku [3-5]

Princip



(PNP = p-nitrofenol, G = glukóza)

Reagentie

Složení a koncentrace

R1:	GOOD pufr	pH 7.15	0.1 mol/L
	NaCl		62.5 mmol/L
	MgCl ₂		12.5 mmol/L
	α - Glukosidáza		$\geq 2,5$ kU/L

Monoklonální protilátky proti slinné amyláze (myší) ≥ 31 mg/L

R2:	GOOD pufr	pH 7.15	0.1 mol/L
	EPS-G7		8.5 mmol/L

Skladování a stabilita

Reagentie jsou stabilní až do konce uvedeného měsíce expirace, pokud jsou skladovány při teplotě 2-8 °C, chráněny před světlem a zabráněno kontaminaci. Reagentie nezmrazujte!

Upozornění a bezpečnostní opatření

1. Zbytková katalytická koncentrace slinné amylázy je max 3 %. Velmi vzácně může extrémně vysoká aktivita slinné α -amylázy vést ke zvýšeným hodnotám pankreatické α -amylázy. Sliny a kůže však obsahují α -amylázu, proto nikdy nepipetujte ústy a vyhněte se kontaktu kůže s činidly.
2. Reagentie obsahují azid sodný (0,95 g/l) jako konzervační látku. Nepolykejte je! Vyhněte se kontaktu s kůží a sliznicemi.
3. Reagentie 1 obsahuje živočišný materiál. S přípravkem zacházejte jako s potenciálně infekčním v souladu s univerzálními bezpečnostními opatřeními a správnou laboratorní praxí.
4. Ve velmi vzácných případech mohou vzorky pacientů s gamapatií poskytovat zkreslené výsledky [10].
5. Seznamte se s bezpečnostními listy a dodržujte nezbytná bezpečnostní opatření při používání laboratorních činidel. Pro diagnostické účely je třeba výsledky vždy posuzovat s anamnézou pacienta, klinickými vyšetřeními a dalšími nálezy.
6. Pouze pro profesionální použití!

Nakládání s odpady

Viz místní zákonné požadavky.

Příprava reagentií

Reagentie jsou připraveny k použití.

Požadovaný materiál, který není součástí dodávky

Roztok NaCl 9 g/l

Běžné laboratorní vybavení

Vzorek

Sérum, heparinová plazma nebo EDTA plazma, moč

Stabilita [8]:

v séru/plazmě:	7 dní	při	20 – 25°C
	7 dní	při	4 – 8°C
	1 rok	při	-20°C
V moči:	2 dny	při	20 – 25°C
	10 dní	při	4 – 8°C
	3 týdny	při	-20°C

Zmrazte pouze jednou! Kontaminované vzorky zlikvidujte.

Pracovní postup

Aplikační listy pro automatizované systémy jsou k dispozici na vyžádání.

Vlnová délka	Hg 405 nm
Kyveta	1 cm
Teplota	37 °C
Měření	Proti reagenčnímu blanku

	Blank	Sérum / Plazma	Moč
Vzorek/Kalibrátor	-	20 μ L	10 μ L
Reagent 1	1000 μ L	1000 μ L	1000 μ L
Promíchejte, inkubujte přibližně 3 minuty a poté přidejte:			
Reagent 2	250 μ L	250 μ L	250 μ L
Promíchejte, po 2 minutách odečtěte absorbanci a spusťte stopky. Po 1, 2 a 3 minutách znovu odečtěte			

Výpočet

S faktorem

Vypočítejte $\Delta A/\text{min}$ z naměřených hodnot absorbance a vynásobte je příslušným faktorem.:

$\Delta A/\text{min} \times 5670 = \text{Aktivita pankreatické amylázy [U/L]}$

S kalibrátorem

$$P - \text{Amyl. [U / L]} = \frac{\Delta A / \text{min vzorku}}{\Delta A / \text{min Kalibrát.}} \times \text{Konc. Kalibrát. [U / L]}$$

Konverzní faktor

Pankreatická amyláza [U/L] $\times 0.0167 =$ Pankreatická amyláza [$\mu\text{kat/L}$]

Kalibrátory a kontroly

Pro kalibraci automatických fotometrických systémů se doporučuje kalibrátor DiaSys TruCal U. Tato metoda je sledovatelná podle molárního extinkčního koeficientu. Pro interní kontrolu kvality by měly být stanoveny kontroly DiaSys TruLab N a P. Každá laboratoř by měla stanovit nápravná opatření, pro případ, že by kontroly vyšly mimo povolené rozsahy.

	Kat. č..	Balení
TruCal U	5 9100 99 10 063	20 3 mL
	5 9100 99 10 064	6 x 3 mL
TruLab N	5 9000 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9000 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9050 99 10 061	6 x 5 mL

Charakteristiky metody

Rozsah měření

Na automatizovaných systémech je test vhodný pro stanovení aktivity pankreatické amylázy až do 2000 U/l.

V případě manuálního postupu je test vhodný pro aktivity pankreatické amylázy, které odpovídají maximálně 0,350 $\Delta A/\text{min}$.

Pokud je tato hodnota překročena, měl by se vzorek zředit 1 + 10 roztokem NaCl (9 g/l) a výsledky vynásobit 11.

Specificita/Interference

Kyselina askorbová do 30 mg/dl, bilirubin do 40 mg/dl, lipémie do 2 000 mg/dl triglyceridů a hemoglobin do 150 mg/dl neinterferovaly. Další informace o interferujících látkách jsou uvedeny v Young DS [9].

Sensitivita/Limit detekce

Dolní mez detekce je 5 U/l.

Přesnost

Přesnost v rámci testu 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

Přesnost mezi testy 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

Srovnání metody

Srovnání DiaSys Pancreatic amylase CC FS (y) s komerčně dostupným testem (x) s použitím 58 vzorků poskytlo následující výsledky:

$$y = 0.97 x - 1.66 \text{ U/L; } r = 0.994.$$

Referenční rozmezí [7]

	Ženy		Muži	
	U/L	$\mu\text{kat/L}$	U/L	$\mu\text{kat/L}$
Sérum/plazma	< 53	< 0.88	< 53	< 0.88
Moč	< 319	< 5.32	< 356	< 5.93

Každá laboratoř by měla ověřit, zda jsou referenční rozsahy přenositelné na její vlastní populaci pacientů, a případně stanovit vlastní referenční rozsahy.

Literatura

1. Lorentz K. α -Amylase. In: Thomas L, editor. Clinical laboratory diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p.192–202.
2. 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.
3. Gerber M, Naujoks K, Lenz H, Wulff K. A monoclonal antibody that specifically inhibits human salivary α - amylase. Clin Chem 1987; 33: 1158-62.
4. Kruse-Jarres JD, Kaiser C, Hafkenschied JC, Hohenwallner W, Stein W., Bohner J et al. Evaluation of a new α -amylase assay using 4,6-ethylidene-(G7)-1-4-nitrophenyl-(G1)- α ,D-maltoheptaoside as substrate. J Clin Chem Biochem 1989; 27: 103-13.
5. Tietz NW, Burlina A, Gerhardt W, Junge W, Maffethermer 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.
6. 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.
7. 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.
8. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001. p. 16-17, 50-51.
9. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
10. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: Mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007; 45(1): 1240–1243.

Výrobce



DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Germany