



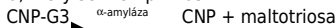
KÓD 11583 5 x 5 mL	KÓD 11550 6 x 25 mL
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C	
Reagenty pro měření koncentrace α-amylázy Pouze pro laboratorní <i>in vitro</i> diagnostiku	

## α-AMYLÁZA - PŘÍMÁ

Kinetika - spektrofotometrie  
PŘÍMÝ SUBSTRÁT

### PRINCIP METODY

α-amyláza katalyzuje hydrolýzu 2-chloro-4-nitrofenyl-maltotriosidu (CNP-G3) na 2-chloro-4-nitrofenol (CNP). Katalytická koncentrace se určí jako míra vzniku 2-chloro-4-nitrofenolu, který se měří při 405 nm<sup>1,2,3</sup>.



### OBSAH

	KÓD 11583	KÓD 11550
A. Reagent	5 x 5 mL	6 x 25 mL

### SLOŽENÍ

**A. Reagent:** MES 50 mmol/L, chlorid vápenatý 5 mmol/L, chlorid sodný 300 mmol/L, rhodanid sodný 450 mmol/L, CNP-G3 2,25 mmol/L, pH 6,1

### SKLADOVÁNÍ

Skladujte při 2-8°C. Reagent je stabilní do data expirace uvedené na štítku, pokud je těsně uzavřený a je zabráněno jeho kontaminaci během použití.

### Známky zhoršení kvality:

Reagent: přítomnost částic, zákal, absorbance blanku větší jak 0,200 při 405 nm. (1 cm kyveta).

### PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

**Reagent (A):** Je připraven k použití- ready to use.

### PŘÍDAVNÁ ZAŘÍZENÍ

- Analyzátor, spektrofotometr nebo fotometr termostabilní při 25, 30 nebo 37°C a s filtrem 405 nm.
- kyveta s 1 cm světelnou cestou.

### VZORKY

Serum, plazma nebo moč odebraná standardním způsobem. α-Amyláza je v séru nebo v plazmě stabilní 1 měsíc při 2-8°C. Jako antikoagulant lze použít heparin. α-Amyláza je v moči je stabilní 1 měsíc při 2-8°C, jestliže je upraveno pH na 7 před skladováním.

### POSTUP

- Vytemperujte pracovní reagent na pracovní teplotu.
- Pipetujte do označených zkumavek: (Poznámka 1, 2):

	Sérum nebo plazma		Moč	
	37°C	25°C, 30°C	37°C	25°C, 30°C
Reagent (A)	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Vzorek	20 µL	50 µL	10 µL	20 µL

- Promíchejte, nasajte reakční směs do kyvety fotometru a zapněte stopky.
- Odečtěte počáteční absorbanci, pak jí odečtěte v minutových intervalech po dobu 3 minut.
- Vypočtěte rozdíl mezi následnými absorbancemi a průměrnou minutovou absorbancí (ΔA/min).

### VÝPOČET

Koncentrace α-Amylázy ve vzorku se vypočítá podle vzorce:

$$\Delta A/\text{min} \frac{Vt \times 10^6}{\epsilon \times l \times Vs} = U/L$$

Molární absorbance (ε) CNP při 405 nm je 15490 a světelná délka (l) je 1 cm. Pro vzorky séra a plazmy je celkový reakční objem (Vt) = 1,02 při 37°C a 1,05 při 25-30°C a objem vzorku (Vs) je 0,02 při 37°C a 0,05 při 25-30°C. Pro vzorky moče je celkový reakční objem (Vt) = 1,01 při 37°C a 1,02 při 25-30°C a objem vzorku (Vs) je 0,01 při 37°C a 0,02 při 25-30°C. 1 U/L odpovídá 0,0166 µkat/L. Následující rovnice je pro výpočet katalytické koncentrace α-Amylázy:

		37°C	25-30°C
ΔA/min	Sérum, plazma	x 3292 = U/L	x 1355 = U/L
		x 54,9 = µkat/L	x 22,6 = µkat/L
	Moč	x 6520 = U/L	x 3292 = U/L
		x 108,7 = µkat/L	x 54,9 = µkat/L

### REFERENČNÍ HODNOTY

Reakční teplota	Sérum, plazma	Moč
	U/L µkat/L	U/L µkat/L

do 25°C	12-45	0,21-0,75	180	3,00
do 30°C	17-60	0,28-1,00	240	4,00
do 37°C <sup>4,5</sup>	22-80	0,37-1,33	321	5,35

Hodnoty při 25 a 30°C byly získány přepočtem z hodnot naměřených při 37°C. Každá laboratoř by si měla stanovit své vlastní srovnávací hodnoty.

### KONTROLA KVALITY:

Pro ověření správnosti měření se doporučuje použít biochemické kontrolní sérum hladiny I (kód. 18005 a 18009) a hladiny II (kód. 18007 a 18010). Každá laboratoř by si měla stanovit svoji vlastní vnitřní kontrolu kvality a postupy pro nápravu jednání, jestliže kontroly nejsou v tolerančním rozpětí.

### METROLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA

- Detekční limit: 1,8 U/L = 0,03 µkat/L
- Linearita: 1317 U/L = 22 µkat/L (sérum a plazma) a 2600 U/L = 43,5 µkat/L (moč). Při vyšších hodnotách zředte vzorek 1/5 destilovanou vodou a opakujte měření.

- Opakovatelnost (within run):

Průměrná koncentrace	CV	n
64 U/L = 1,07 µkat/L	1,8%	20
338 U/L = 5,63 µkat/L	0,5%	20

- Reproducibility (run to run):

Průměrná koncentrace	CV	n
64 U/L = 1,07 µkat/L	3,5%	25
338 U/L = 5,63 µkat/L	1,0%	25

- Citlivost: 0,304 ΔmA·L/U·min = 18,2 ΔmA·L/µkat·min
- Správnost: Výsledky získané touto soupravou nevykazovaly systematické rozdíly při porovnání s referenčními reagenty. Podrobnosti o porovnávací zkoušce jsou k dispozici na vyžádání.
- Interference: Lipemie (triglyceridy 10 g/L) a bilirubin (20 mg/dL) neinterferují. Hemoglobin (2,5 g/L) interferuje. Některé léky a látky mohou interferovat<sup>5</sup>.

Tyto metrologické charakteristiky byly získány na analyzátoru. Výsledky se mohou lišit při použití různých analyzátorů, nebo při manuální metodě.

### DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

α-amyláza katalyzuje hydrolýzu α-1,4 karbohydrátových řetězců tvořených α-D-glukosovými jednotkami. Výsledkem jsou slukly dextrinů, maltosy a některé molekuly glukosy. α-amyláza je tvořena hlavně pankreasem (P-typ) a slinotvornými žlázami (S-typ), a také některými dalšími tkáněmi.

Kvantitativní rozbor aktivity α-amylázy v séru a v moči má velký význam při diagnóze onemocnění pankreasu, jako je chronická pankreatitida. Hyperamylasemie také ukazuje na renální nedostatečnost, akutní otravu bícha, nádory plic a vaječníků, poranění slinotvorných žláz, makroamylasemii, diabetickou ketoacidózu, onemocnění žlučových cest, cerebrální trauma, chronický alkoholismus a zneužívání některých léků nebo drog (opiátů)<sup>6,7</sup>.

Klinická diagnóza by však neměla být uzavřena jen na základě tohoto výsledku, ale měly by být propojeny klinické a laboratorní výsledky.

### POZNÁMKY

- Sliny a pokožka obsahují α-amylázu, proto nikdy nepipetujte ústy a zabraňte kontaktu kůže s reagentem.
- Tento reagent může být použitý v různých analyzátoch. Aplicační protokoly jsou k dispozici na: [www.jktrading.cz](http://www.jktrading.cz)

### LITERATURA

- Winn-Deen ES, David H, Sigler G and Chavez R. Development of a direct assay for α-amylase. *Clin Chem* 1988; 34: 2005-2008.
- Gella FJ, Gubern G, Vidal R, Canalias F. Determination of total and pancreatic α-amylase in human serum with 2-chloro-4-nitrophenyl-α-D-maltotriose as substrate. *Clin Chim Acta* 1997; 259: 147-160.
- Gubern G, Balsells D, Ferragut R, Galán A, Gella FJ, et al. Procedimiento recomendado para la determinación en rutina de la concentración catalítica de α-amilasa en suero sanguíneo humano. *Quim Clin* 1996; 15: 51-52.
- Balsells D, Gella FJ, Gubern G, Canalias F. Reference values for α-amylase in human serum and urine using 2-chloro-4-nitrophenyl-α-D-maltotriose as substrate. *Clin Chim Acta* 1998; 274: 213-217.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1999.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.

7. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994.
8. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.

#### **UPOZORNĚNÍ**

##### **Překlad pořízen k datu: 20.5.2006**

Vzhledem k možné inovaci výrobku Vám doporučujeme překontrolovat český překlad s originálním příbalovým letákem. Více informací naleznete na internetové adrese: [www.biosystems-sa.com](http://www.biosystems-sa.com), nebo na adrese výhradního distributora pro ČR: [www.jktrading.cz](http://www.jktrading.cz)