

AMYLaza

Odczynnik do oznaczania aktywności α -amylazy

Tylko do diagnostyki in vitro

Nr kat. 5013.1

4 x 20 ml



ZASTOSOWANIE

Odczynnik służy do oznaczania aktywności α -amylazy w surowicy lub osoczu krwi i w moczu.

ZASADA METODY



α -Amylaza hydrolizuje 2-chloro-4-nitrofenylo- α -D-maltotriozyd (CNPG3) do 2-chloro-4-nitrofenolu (CNP), 2-chloro-4-nitrofenylo- α -D-maltozydu (CNP2), maltotriozy i glukozy. Szybkość przyrostu absorbancji związanego z powstającym CNP jest proporcjonalna do aktywności α -amylazy.

MATERIAŁ DO BADAŃ

Surowica, osocze lub mocz pobrane zgodnie ze standardowymi procedurami. Jako antykoagulant może być stosowana heparyna. Probki można przechowywać do 7 dni w temp. 2-8°C.

WARTOŚCI PRAWDŁOWE

Surowica, osocze:

25 – 94 U/l (0,42 – 1,57 μ kat/l) (37°C)

Mocz:

Kobiety: 45 – 492 U/l (0,75 – 8,20 μ kat/l) (37°C)

Mężczyźni: 47 – 633 U/l (0,78 – 10,6 μ kat/l) (37°C)

Podane wartości należy traktować jako orientacyjne. Zaleca się, aby każde laboratorium określiło własne zakresy wartości prawidłowych.

SKŁAD ODCZYNNIKA

Bufor MES pH 6,0	100 mmol/l
CNPG3	2,25 mmol/l
Tiocyanian potasu	900 mmol/l
Chlorek sodu	350 mmol/l
Octan wapnia	6 mmol/l
Azydek sodu	< 13,9 mmol/l

PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKA

Odczynnik jest gotowy do użycia.

PRZECHOWYWANIE ODCZYNNIKA

Przechowywać w temp. 2-8°C w oryginalnych, zamkniętych opakowaniach. Chronić przed kontaminacją i bezpośrednim działaniem światła. Nie zamrażać.

Po otwarciu odczynnik prawidłowo przechowywany i chroniony przed zanieczyszczeniem jest stabilny do daty ważności podanej na opakowaniu.

CHARAKTERYSTYKA UŻYTKOWA

Limit detekcji: 2 U/l (0,03 μ kat/l)

Czułość: 0,25 Δ mA x l / U x min. (15,2 Δ mA x l / μ kat x min.)

Liniiowość: 1500 U/l (25 μ kat/l). Dla wyższych aktywności próbkę należy rozcieńczyć 0,9 % roztworem NaCl w stosunku 1+1; wynik oznaczenia pomnożyć przez 2.

Powtarzalność (w serii oznaczeń):

Powtarzalność (w serii oznaczeń):

poziom	I	II
n	18	18
średnia (U/l)	72,77	174,38
średnia (μ kat/l)	1,21	2,91
% CV	<4,00%	<3,5%

Odtwarzalność (między seriami oznaczeń):		
poziom	I	II
n	18	18
średnia (U/l)	74,42	178,45
średnia (μ kat/l)	1,24	2,97
% CV	< 6,00 %	< 5,00%

Korelacje:

Badania korelacji wyników z wynikami uzyskanymi za pomocą odczynników referencyjnych nie wykazały znaczących różnic. Dokładne wyniki badań są dostępne na życzenie.

Interferencje:

Bilirubina do 20 mg/dl i lipemia do 1000 mg/dl (triglicerydy) nie wpływają na wyniki oznaczeń.

Inne substancje i leki mogą interferować.

KONTROLA POPRAWNOŚCI DZIAŁANIA

Do kontroli jakości oznaczeń stosować surowice kontrolne z wartościami α -amylazy zmetrykowanymi dla metody CNPG3 (Genzyme).

Nie stosować odczynnika, jeżeli jego absorbancja mierzona wobec wody przy długości fali 405 nm jest wyższa niż 0,300.

DODATKOWE MATERIAŁY I WYPOSAŻENIE

-Fotometr lub analizator automatyczny z termostatowanym gniazdem pomiarowym umożliwiającym pomiar absorbancji przy długości fali 405 nm.

-Standardowe wyposażenie laboratorium diagnostycznego.

WYKONANIE OZNACZENIA

Do kuwety napipetować:

Odczynnik: 1000 μ l

Doprowadzić do temperatury oznaczenia (37°C), następnie dodać:

Próbka: 20 μ l

Dokładnie wymieszać; po 1 min. inkubacji w temperaturze oznaczenia odczytać absorbancję wobec powietrza lub wody przy dł. fali 405 nm.

Powtarzać odczyty absorbancji po dokładnie 1, 2 i 3 minutach.

Wyznaczyć średnią zmianę absorbancji na minutę (Δ A/min.).

OBLICZENIA

Obliczenia prowadzone są w oparciu o następujący wzór:

$$\text{aktywność ALAT [U/l]} = \frac{V_t \times 10^5}{\epsilon \times l \times V_s} \times \Delta A/\text{min.}$$

V_t - całkowita objętość mieszaniny reakcyjnej = 1,02 ml

ϵ - molowy współczynnik absorbancji CNP przy długości fali 405 nm

$12,9 \times 10^3 \text{ m}^2/\text{mol}$

l - długość drogi światła = 1 cm

V_s - objętość próbki = 0,02 ml

aktywność α -amylazy [U/l] = 3953 x AA/min.

aktywność α -amylazy [μ kat/l] = 65,9 x AA/min.

INFORMACJE DODATKOWE

1. Bezwzględnie unikać kontaktu odczynnika z potem i śliną, ze względu na możliwość zanieczyszczenia odczynnika zawartą w nich α -amylazą.
2. Odczynnik zawiera śladowe ilości azydru sodu i tiocyjanian potasu. Przy pracy z odczynnikiem stosować środki ostrożności typowe dla rutynowych prac laboratoryjnych.
3. Odpady utylizować zgodnie z obowiązującymi przepisami – przez termiczne przekształcanie lub odpowiednimi metodami obróbki fizyczno-chemicznej.
4. Aplikacje do analizatorów automatycznych dostarczamy na życzenie

REFERENCJE

1. International Federation of Clinical Chemistry: IFCC methods for measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 9. IFCC method for α -amylase [1,4- α -D-glucan 4-glucanohydrolase, EC 3.2.1.1]. Clin. Chim. Acta 281, S5-S39 (1999).
2. Lorentz K., Gutschow B., Renner F.: Evaluation of a direct α -amylase assay using 2-chloro-4-nitrophenyl- α -D-maltotrioxide. Clin Chem. Lab. Med. 37, 1053-1062 (1999).
3. Guder W. G., da Fonseca-Wollheim F., Heil W., Müller-Plathe O., Töpfer G., Wisser H., Zawta B.: Stabilität der Mesgröße in der Probenmatrix. DG Klinische Chemie Mitt 26, 205 (1995).
4. Clave P., Guillaumes S., Blanco I., Nabau N., Merce J., Farre A., Marruecos L., Lluís F.: Amylase, lipase, pancreatic isoamylase, and phospholipase A in diagnosis of acute pancreatitis. Clin. Chem. 41, 1129-1134 (1995).
5. Young D. S.: Effects of drugs on clinical laboratory tests, AACC Press, 4th ed. (1995).