

# Amylázové činidlo EPS-G7 pro Beckman Coulter™ SYNCHRON® a UniCel® Systems‡

**REF** A45288 (2 x 200 testů)

## POUŽITÍ

Činidlo ke kvantitativnímu stanovení  $\alpha$ -amylázy (1,4-  $\alpha$ -D-glukan glukanohydroláza EC3.2.1.1) v lidském séru, plazmě a moči pomocí Beckman Coulter Synchron CX/LX a UniCel DxC Systems.

## KLINICKÝ VÝZNAM<sup>1,2</sup>

$\alpha$ -amyláza katalyzuje hydrolyzu glykosidových vazeb  $\alpha$  (1→4) v polysacharidech za vzniku maltózy a jiných oligosacharidů. Molekula tohoto enzymu je relativně malá a je rychle vylučována ledvinami do moči. Enzym přítomný v séru a v moči pochází především ze slinivky (p-amyláza) a ze slinných žláz (s-amyláza).  $\alpha$ -amyláza se velmi často stanovuje při diagnostice akutní pankreatitidy, kdy mohou být sérové hladiny enzymu významně zvýšeny (obvyklé je čtyř- až šestnásobné zvýšení nad horní hranici referenčního rozmezí). Při akutní pankreatitidě se hladiny  $\alpha$ -amylázy začínají zvyšovat 5 až 8 hodin po začátku klinických příznaků, maxima dosahují mezi 12 až 72 hodinami a normalizují se mezi 3. a 4. dnem.

## METODOLOGIE<sup>2,3</sup>

Metody, které ke stanovení amylázy užívají dobře definované substráty s krátkými glykosidovými řetězci, nabízejí signifikantní výhody oproti postupům amyloklastickým a sacharogenním, a proto dosáhly širokého rozšíření. Jedním z takových substrátů, který se používá v této metodě, je ethylen-pNP-G7 (E-pNP-G7), běžně označovaný jako EPS. Užití ethylenu zabírá exo-enzymům ve štěpení substrátu a proto nedochází při nepřítomnosti  $\alpha$ -amylázy ke změně barvy.

$\alpha$ -amyláza přítomná ve vzorcích štěpí substrát na menší fragmenty, jež jsou dále zpracovány  $\alpha$ -glukosidázou s následným uvolněním chromoforu.

Sled reakcí tohoto kvantitativního rozboru je následující:

- $\text{EPS} + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\alpha\text{-amyláza}} 4,6\text{-Ethylen-G} + 4\text{-Nitrofenyl-G (7-x)}$
- $4\text{-Nitrofenyl-G (7-x)} + (7-x) \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\alpha\text{-glukosidázou}} (7-x) \text{Glukóza} + 4\text{-Nitrophenoxidu}$

Rychlost tvorby 4-Nitrophenoxidu je úměrná aktivitě  $\alpha$ -amylázy přítomné ve vzorku a je měřena mírou zvýšení absorbance při 410 nm (druhotná vlnová délka 560nm) na Beckman Coulter Synchron CX/LX a UniCel DxC Systems. Při použití se schválenými Systémovými parametry získá Amylázové činidlo EPS-G7 hodnoty amylázy IFCC.

## SLOŽENÍ ČINIDLA

### Aktivní přísady

	Koncentrace
Činidla A (Kompartment A)	
$\alpha$ -glukosidáza (mikrobiální)	>9700 U/l
NaCl	87 mmol/l
MgCl <sub>2</sub>	12,6 mmol/l
CaCl <sub>2</sub>	0,08 mmol/l
Pufř	53,3 mmol/l

Konzervační přísady  
pH 7,2 ± 0,05 při 20°C.

### Činidla B (Kompartiment B)

EPS	22 mmol/l
Pufř	54,4 mmol/l

Konzervační přísady  
pH 7,2 ± 0,05 při 20°C.

**VAROVÁNÍ:** Amylázové činidlo EPS-G7 je určen pouze pro diagnostiku in vitro. Nepolykejte. Zabraňte kontaktu s kůží a očima. Při polížení místa důkladně omyjte vodou. Činidlo obsahuje azid sodný, který může reagovat s mědí nebo olověným potrubím. Při vylévání spláchněte velkým množstvím vody. Další informace naleznete v Záznamovém listu Amylázové činidlo EPS-G7 na Beckman Coulter Synchron CX/LX a UniCel DxC Systems.

## PŘÍPRAVA ČINIDLA

Činidlo je dodáváno připravené k použití. Převeďte obsah činidla A a činidla B do příslušných částí uživatelsky definovaného zásobníku, který je součástí sady, viz tabulka dole. Postupujte opatrně, abyste předešli kontaminaci.

Kit amylázového činidla EPS-G7	Kompartiment A	Kompartiment B
Činidla A	40 ml	-
Činidla B	-	8,5 ml

## STABILITA A SKLADOVÁNÍ

Neotevřená činidla jsou stabilní do vypršení data spotřeby, pokud jsou skladována při teplotě 2-8°C. Při skladování v Synchron CX/LX a UniCel DxC Systems je činidlo stabilní 35 dní.

### Indikace zkaženého činidla:

- Kalnost
- Neobnovení kontrolních hodnot v určeném rozsahu
- „BL ABS HI“ praporek

## SBĚR VZORKŮ A MANIPULACE S NIMI

**Sérum:** Používejte nehemolyzované sérum.

**Plazma:** Li-heparin nebo Na-heparin.

**Moč:** Nahodilě nebo časované kolekce jsou platnými vzorky.<sup>4</sup>

**Skladování:**  $\alpha$ -amyláza je výjimečně stabilní, vzorky séra mohou být skladovány nejméně 4 dny při pokojové teplotě a nejméně 2 týdny při teplotě 4°C.<sup>2</sup> Vzorky moči zůstávají stabilní 7 dnů při skladování při 4°C. Při předpokládané prodlévání v transportu vzorku moči do laboratoře je doporučeno použití chemických konzervačních přípravků jako např. Merthiolátu (0,24 mmol/l).<sup>4</sup>

## DODÁVANÉ MATERIÁLY

- Thermo Scientific Amylázové činidlo EPS-G7 pro Beckman Coulter Synchron CX/LX a UniCel DxC Systems.

## DODATEČNÉ POTŘEBNÉ, ALE NEDODÁVANÉ VYBAVENÍ

- Chemický analyzátor Beckman Coulter Synchron CX/LX a UniCel DxC.
- Poháry na vzorky Beckman Coulter.
- Analyzované normální i abnormální kontrolní vzorky.

## TESTOVACÍ POSTUPY

Vložte činidlo do systému jak je doporučeno v uživatelské příručce. Nastavte vzorky a kontroly jak je doporučeno v uživatelské příručce.

Pro parametry Synchron CX/LX a UniCel DxC Systems se řiďte oddílem Systémové parametry v příloženém návodu.

## KALIBRACE

Kalibrace není požadována. Synchron CX/LX a UniCel DxC Systems vypočítává aktivitu v U/l vynásobením změně rychlosti reakce kalkulačním faktorem (viz oddíl Systémové parametry v příloženém návodu). Kalkulační faktor byl odvozen k dosažení přepočtu do IFCC amylázového referenčního měřícího postupu.<sup>3</sup>

## VÝSLEDKY

Výsledky jsou přístrojem Synchron CX/LX a UniCel DxC Systems vypočteny automaticky.

Převod jednotek: U/l x 16,67 x 10<sup>-3</sup> =  $\mu$ kat/l.

## KVALITNÍ KONTROLA

Aby byla zajištěna dostatečně kvalitní kontrola, normální a abnormální kontrolní vzorky s analyzovanými hodnotami by měly být analyzovány jako neznámé:

- Nejméně jednou denně, nebo jak je v příslušné laboratoři zavedeno.
- Při použití nové kartridge činidla.
- Po preventivní údržbě nebo výměně důležitého komponentu.

Kontrolní výsledky, jež spadají nad rámec vyšších nebo nižších mezí, naznačují, že vzorek je zřejmě mimo kontrolu. V těchto situacích doporučujeme následující opravné kroky:

- Zopakujte stejné kontrolní kroky.
- Pokud opakované kontrolní výsledky přesahují mezní hodnoty, připravte si čerstvé kontrolní sérum a test zopakujte.
- Pokud výsledky čerstvých kontrol zůstávají opakovaně mimo referenční meze, zopakujte test s novým činidlem.
- Pokud výsledky mezní hodnoty stále přesahují, kontaktujte technický servis nebo místního dodavatele.

## OMEZENÍ

- Na CX a LX/DxC byly provedeny zkoušky analytické přesnosti k určení míry interference různých součástí vzorků. Nebyla pozorována žádná interference podle následujících interferenčních koncentračních limitů (zkušební měřítka, vstupní kontrolní hodnota ± 10%):

	LX/DxC	CX
Hemoglobin	900 mg/dl	1000 mg/dl
Lipémie (užití Intralipidu)	2000 mg/dl	1000 mg/dl
Glukóza	2160 mg/dl	2160 mg/dl
Volný bilirubin	60 mg/dl	60 mg/dl
Konjugovaný bilirubin	60 mg/dl	60 mg/dl
Kyselina askorbová	200 mg/dl	200 mg/dl

## OČEKÁVANÉ HODNOTY<sup>5</sup>

Sérum/Plazma:	při 37°C	28 - 100 U/l (0,468 - 1,67 $\mu$ kat/l)
* Moč – muž	při 37°C	16 - 491 U/l (0,267 - 8,18 $\mu$ kat/l)
* Moč – žena	při 37°C	21 - 447 U/l (0,350 - 7,45 $\mu$ kat/l)

\*Očekávané hodnoty moči byly vypočítány ze vzorků odebraných při spontánním močení.

## PŘÍDATNÉ INFORMACE:

Jelikož Beckman Coulter nevyrábí činidlo ani neprovádí kontroly kvality nebo další testy jeho jednotlivých složek, nemůže nést odpovědnost za kvalitu získaných dat, která je způsobena použitým činidlem, nebo odchylkami mezi složkami činidla nebo chybami v protokolu výrobce.

## POŠKOZENÍ PŘI PŘEPRAVĚ

Pokud obdržíte poškozený výrobek, informujte Vaše Centrum klinické podpory Beckman Coulter.

## ÚDAJE O VÝKONU

Následující údaje byly získány při použití Amylázového EPS-G7 Thermo Scientific činidla na Beckman Coulter Synchron CX/LX a UniCel DxC Systems podle stanovených postupů.

## ROZSAH MĚŘENÍ

Je-li prováděn v souladu s doporučeními, je rozsah měření rozboru při použití všech doporučených matric vzorků následující:

LX/DxC:	4 - 2000 U/l (0,067 - 33,3 $\mu$ kat/l)
CX:	4 - 1800 U/l (0,067 - 30,0 $\mu$ kat/l)

**DETEKČNÍ LIMIT**

Detekční limit reprezentuje nejnižší měřitelnou hodnotu vzorku, která může být významně rozlišena od nuly. Je vypočtena jako hodnota ležící dvě standardní odchylky od zjištěné střední hodnoty pro nulový (čistý) vzorek.

Při stanovení podle návodu je detekční limit:

LX/DxC: 4 U/l (0,067 µkat/l)

CX: 4 U/l (0,067 µkat/l)

**NEPŘESNOST**

Přesnost byla hodnocena podle doporučených postupů NCCLS (CLSI) EP5-A2.<sup>6</sup> Po dobu 20 dnů bylo na stejném místě k průkazu spolehlivosti metody provedeno 40 zkušebních měření za použití tří různých aktivit komerčně dostupných kvalitních kontrolních vzorků séra a dvou různých aktivit kvalitních kontrol vzorků moči na odpovídajícím analyzátoru. Byla prováděna dvě stanovení denně jednou osobou s identickým vzorkem činidla na analyzátoch CX a LX/DxC.

LX/DxC	Sérum						Moč				
	ÚROVEŇ I		ÚROVEŇ II		ÚROVEŇ III		ÚROVEŇ I		ÚROVEŇ II		
	U/l	µkat/l	U/l	µkat/l	U/l	µkat/l	U/l	µkat/l	U/l	µkat/l	
n	80		80		80		80		80		
Průměr	69	1,15	289	4,82	800	13,3	53	0,884	155	2,58	
V rámci procesu	SD	1,5	0,025	2,6	0,043	9,9	0,165	1,7	0,028	1,7	0,028
	CV %	2,2		0,9		1,2		3,2		1,1	
Celkem	SD	1,5	0,025	3,8	0,063	9,9	0,165	1,9	0,032	3,2	0,053
	CV %	2,3		1,3		1,2		3,5		2,1	

CX	Sérum						Moč				
	ÚROVEŇ I		ÚROVEŇ II		ÚROVEŇ III		ÚROVEŇ I		ÚROVEŇ II		
	U/l	µkat/l	U/l	µkat/l	U/l	µkat/l	U/l	µkat/l	U/l	µkat/l	
n	80		80		80		80		80		
Průměr	70	1,17	285	4,75	810	13,5	54	0,900	157	2,62	
V rámci procesu	SD	1,8	0,030	3,3	0,055	4,8	0,080	2,5	0,042	2,1	0,035
	CV %	2,6		1,2		0,6		4,6		1,4	
Celkem	SD	2,3	0,038	4,1	0,068	7,8	0,130	2,8	0,047	2,9	0,048
	CV %	3,3		1,4		1,0		5,2		1,9	

**SROVNÁNÍ METODY**

Srovnávací zkoušky byly vykonány podle doporučených postupů NCCLS (CLSI) EP9-A2.<sup>7</sup> Komerčně dostupné Amylázové činidlo EPS-G7 bylo užito jako referenční metoda (X) podle doporučeného návodu na analyzátoru Roche Hitachi 911<sup>®</sup>. Testovací metoda (Y) byla provedena podle doporučeného návodu na analyzátoch Beckman Coulter Synchron CX/LX a UniCel DxC. Vzorky séra/plazmy a moči byly paralelně stanoveny jak testovací tak referenční metodou a výsledky byly porovnány Demingovou regresí. Byly dosaženy následující statistické údaje:

LX/DxC	Sérum/Plasma		Sérum		Plasma		Moč	
	U/l	µkat/l	U/l	µkat/l	U/l	µkat/l	U/l	µkat/l
n	111		70		41		106	
Rozsah	45 - 1864	0,750 - 31,1	45 - 1864	0,750 - 31,1	46 - 1493	0,768 - 24,9	17 - 1884	0,283 - 31,4
X-Průměr	410	6,83	400	6,68	428	7,15	400	6,67
Y-Průměr	396	6,60	386	6,45	414	6,91	403	6,72
Regresní koeficient	0,975		0,973		0,979		1,027	
Průsečík	-3,7	-0,062	-3,0	-0,050	-4,8	0,080	-7,6	0,127
r	0,9994		0,9994		0,9995		0,9992	

CX	Sérum/Plasma		Sérum		Plasma		Moč	
	U/l	µkat/l	U/l	µkat/l	U/l	µkat/l	U/l	µkat/l
n	111		70		41		99	
Rozsah	45 - 1864	0,750 - 31,1	45 - 1864	0,750 - 31,1	46 - 1493	0,768 - 24,9	17 - 1493	0,283 - 24,9
X-Průměr	410	6,83	400	6,68	428	7,15	332	5,53
Y-Průměr	395	6,58	386	6,45	411	6,86	350	5,83
Regresní koeficient	0,972		0,970		0,975		1,065	
Průsečík	-3,2	-0,053	-1,5	-0,025	-6,1	-0,102	-4,1	-0,068
r	0,9991		0,99993		0,9987		0,9975	

Srovnávací zkoušky byly provedeny stejným způsobem popsaným výše za použití Amylázového činidla BCI jako referenční metody (X). Byly dosaženy následující statistické údaje:

LX/DxC	Sérum/Plasma		Moč	
	U/l	µkat/l	U/l	µkat/l
n	110		101	
Rozsah	29 - 797	0,483 - 13,3	27 - 779	0,450 - 13,0
X-Průměr	191	3,18	292	4,87
Y-Průměr	152	2,53	227	3,78
Regresní koeficient	0,791		0,726	
Průsečík	0,5	0,008	15,1	0,252
r	0,9987		0,9983	

CX	Sérum/Plasma		Moč	
	U/l	µkat/l	U/l	µkat/l
n	112		110	
Rozsah	29 - 798	0,483 - 13,3	31 - 773	0,517 - 12,9
X-Průměr	219	3,65	289	4,82
Y-Průměr	181	3,02	234	3,90
Regresní koeficient	0,830		0,775	
Průsečík	-0,6	-0,010	10,0	0,167
r	0,9975		0,9963	

# Amylázové činidlo EPS-G7

## pro Beckman Coulter™ SYNCHRON® a UniCel® Systems‡

### Systémový parametr

PARAMETRY PŘÍSTROJE:	Synchron CX	Synchron LX/UniCel Dx C
Název testu:	AMYX	AMYX
Typ reakce:	Rozsah 1	Rozsah 1
Jednotky:	U/l	U/l
Desetinná přesnost:	X	X
Směr reakce:	POZITIVNÍ	POZITIVNÍ
Matematický model:	Lineární	Lineární
Faktor výpočtu:	6220	6220
Časový limit kalibrace:	0	0
Počet kalibrátorů:	0	0
1		
2		
3		
4		
5		
6		
Primární vlnová délka:	410	410
Sekundární vlnová délka:	560	560
Objem vzorku:	7 µl	7 µl
<b>ČINIDLA:</b>		
Primární vstříknutí (první)/První vstříknutí		
Oddělení/Složka:	A	A
Objem/Dispens. objem:	175 µl	175 µl
Doba přidání/Doba vstříknutí:	0 s	0 s
Primární vstříknutí (první)/Druhé vstříknutí		
Oddělení/Složka:	B	B
Objem/Dispens. objem:	35 µl	35 µl
Doba přidání/Doba vstříknutí:	0 s	-180 s
Sekundární vstříknutí/Třetí vstříknutí		
Oddělení/Složka:	Čisté	Čisté
Objem/Dispens. objem:	0	0
Doba přidání/Doba vstříknutí:	n/a	n/a
<b>ČINIDLA:</b>		
<b>Prázdné</b>		
Začátek čtení:	220 s	-80 s
Konec čtení:	280 s	-20 s
<b>Reakce 1</b>		
Začátek čtení:	180 s	180 s
Konec čtení:	270 s	300 s
<b>Reakce 2</b>		
Začátek čtení:	n/a	n/a
Konec čtení:	n/a	n/a

# Amylázové činidlo EPS-G7

## pro Beckman Coulter™ SYNCHRON® a UniCel® Systems‡


### Systémový parametr

PARAMETRY PŘÍSTROJE:	Synchron CX	Synchron LX/UniCel DxC
POUŽITELNÉ VÝSLEDKY:		
Nižší limit:	4	4
Vyšší limit:	1800	2000
LIMIT DETEKCE CHYB:		
<b>Činidlo čisté/Čisté</b>		
Dolní limit ABS:	-0,100	-0,100
Horní limit ABS:	0,250	0,250
Dolní limit rozsahu:	n/a	-1,500
Horní limit rozsahu:	n/a	2,200
Střední odchylka:	n/a	2,200
<b>Reakce/Reakce 1</b>		
Dolní limit ABS:	-0,100	-0,100
Horní limit ABS:	1,500	2,200
Dolní limit rozsahu:	n/a	-1,500
Horní limit rozsahu:	n/a	2,200
Střední odchylka:	n/a	2,200
<b>Reakce 2</b>		
Dolní limit ABS:	n/a	-1,500
Horní limit ABS:	n/a	2,200
Dolní limit rozsahu:	n/a	-1,500
Horní limit rozsahu:	n/a	2,200
Střední odchylka:	n/a	2,200
SPOTŘEBA SUBSTRÁTU:		
Počáteční poměr:	99,999	99,999
Delta ABS:	1,500	2,200
ROZPĚTÍ NÁSOBNÉHO BODU:	n/a	n/a

#### REFERENCE

1. JF Zilva and PR Pannall. "Plasma Enzymes in Diagnosis" in Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment. Lloyd-Luke London 1979: Chapter XV: 341-2
2. M Panteghini, Bais, R and van Solinge "Enzymes" in Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Elsevier Saunders 2006 Chapter 21 616-7.
3. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalyze activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 8. Reference procedure for the measurement of catalyze concentration of  $\alpha$ -Amylase. Clin Chem Lab Med 2006: 1146-55
4. Shephard MDS, Mazzachi RD. The Clin Biochem 1983; 4: 61-7.
5. Junge, W. et. al. 'Development of assays for the determination of total and pancreatic amylase at 37°C according to the principle recommended by the IFCC.' Clin Biochem. 2001; 34:607 - 15.
6. Tholen, D. W. et. al. 'EP5-A2. Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; Approved guideline – second edition. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2004; Volume 24: Number 25.
7. Krouwer, J. S. et al. 'EP9-A2. Method comparison and bias estimation using patient samples; Approved guideline – second edition. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2002; Volume 22: Number 19.













© 2008 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. Hitachi 911® is a registered trademark of Roche Diagnostics, Indianapolis, IN 46250. ‡SYNCHRON LX®/CX® and UniCel® DxC are registered trademarks of Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA 92835. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

 Fisher Diagnostics  
a division of Fisher Scientific Company, LLC  
a part of Thermo Fisher Scientific Inc.  
Middletown, VA 22645-1905 USA  
Phone: 800-528-0494  
540-869-3200  
Fax: 540-869-8132

 MDCI Ltd.  
Arundel House  
1 Liverpool Gardens  
Worthing, West Sussex BN11 1SL UK



#### SYMBOLY NA ETYKIETACH PRODUKTU

	Zplnomocněný zástupce		Teplotní limit
	Pro diagnostické použití in vitro		Použijte do/Datum spotřeby
	Kód dávky/číslo		VÝSTRAHA. Před použitím prostudujte návod.
	Katalogové číslo		Výrobce
	Před použitím prostudujte návod		Činidla B
	Činidla A		Nepoužívejte opakovaně