

Odczynnik Amylazy EPS-G7 dla Systemów[†] Beckman Coulter[™] SYNCHRON[®] i UniCel[®]

REF A45288 (2 x 200 testów)

PRZEZNACZENIE

Odczynnik służy do wyznaczania ilości α -Amylazy (1,4- α -D-glukan glukanohydrolaza EC3.2.1.1) w ludzkiej surowicy, osoczu lub moczu przy pomocy urządzeń Beckman Coulter Synchron CX/LX i UniCel Dx.C.

ZNACZENIE KLINICZNE^{1,2}

α -amylaza katalizuje hydrolizę wiązań 1,4 – α -glukozydowych w polisacharydach produkując maltozę i inne oligosacharydy. Enzym ten jest relatywnie małą molekułą szybko oczyszczaną przez nerki i wydalaną wraz z moczem. Obecny w surowicy i moczu enzym jest głównie pochodzenia trzustkowego (P-AMY) lub ślinowego (S-AMY). α -amylaza jest mierzona najczęściej przy diagnozowaniu ostrego zapalenia trzustki, kiedy do poziom surowicy może być bardzo wysoki (zwykle 4 do 6 razy powyżej górnego limitu). W ostrym zapaleniu trzustki poziom α - amylazy zaczyna rosnąć po 5 do 8 godzinach od wystąpienia symptomów i osiąga swój szczyt pomiędzy 12 a 72 godziną, po czym wraca do normalnego poziomu pomiędzy trzecim, a czwartym dniem.

METODA^{2,3}

Metody wykorzystujące amylazę, które stosują ściśle określonych substratów z krótkim łańcuchami glukozyli są lepsze od procedur amyloklasyfikacyjnych i sacharogenicznych i w rezultacie zyskały szerszą akceptację. Jednym z takich substratów używanym w tej metodzie jest etyliden-pNP-G7 (E-pNP-G7), powszechnie określanej też jako EPS. Użycie etylidenu zapobiega rozpadowi substratu pod wpływem eksoenzymów stąd w wypadku braku α -amylazy nie jest obserwowana zmiana koloru. α -amylaza obecna w próbce rozkłada substrat uwalniając mniejsze fragmenty, na które z kolei działa α -glukozydaza, powodując ostateczne uwolnienie chromoforu. Seria reakcji występująca w tym układzie jest następująca:

- EPS + H₂O $\xrightarrow{\alpha\text{-amylaza}}$ 4,6-Etyliden-G x + 4-Nitrofenyl-G (7-x)
- 4-Nitrofenyl-G (7-x) + (7-x) H₂O $\xrightarrow{\alpha\text{-glukozydaza}}$ (7-x) Glukoza + 4-nitrofenoksydu

Tempo formowania się 4-nitrofenoksydu jest proporcjonalne do ilości α -amylazy obecnej w próbce i jest mierzone poprzez tempo wzrostu absorbancji w 410 nm (pomocnicza fala długości 560 nm) na systemie Beckman Coulter Synchron CX/LX i UniCel Dx.C. Przy stosowaniu z potwierdzonymi parametrami systemu, odczynnik amylazy EPS-G7 odzyska wartości amylazy zgodną z IFCC.

SKŁAD ODCZYNNIKA

Składniki aktywne

Reagent A (Pojemnik A)

α -Glukozydaza-(bakteryjna)

	Stężenie
NaCl	>9700 U/l
MgCl ₂	87 mmol/l
CaCl ₂	12,6 mmol/l
Bufor	0,08 mmol/l
Konserwant	53,3 mmol/l

pH 7,2 ± 0,05 w temp 20°C.

Reagent B (Pojemnik B)

EPS 22 mmol/l

Bufor 54,4 mmol/l

Konserwant

pH 7,2 ± 0,05 w temp 20°C.

UWAGA: Amylazy EPS-G7 jest wyłącznie do użytku diagnostycznego in vitro. Nie spożywać. Unikać kontaktu ze skórą i oczami. W razie rozlania dokładnie umyć zanieczyszczone miejsca wodą. Odczynnik zawiera azydek sodu, który może reagować z instalacjami miedzianymi i ołowianymi. Usuwając słupek dużą ilością wody. W celu uzyskania dodatkowych informacji należy zapoznać się z „Kartą charakterystyki substancji niebezpiecznej” dotyczącą odczynnika do oznaczania Amylazy EPS-G7 na systemie Beckman Coulter Synchron CX/LX i UniCel Dx.C.

PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKA

Odczynnik dostarczany jest w postaci gotowej do użytku. Przenieś odczynnik A i odczynnik B do właściwych pojemników naboju dobieranego przez użytkownika, a zawartego w zestawie, tak jak pokazano w tabeli poniżej. Należy zachować ostrożność, aby nie doszło do zanieczyszczenia.

Zestaw amylazy EPS	Pojemnik A	Pojemnik B
Odczynnik A	40 ml	-
Odczynnik B	-	8,5 ml

STABILNOŚĆ I PRZECHOWYWANIE

Zamknięte odczynniki nadają się do użytku, do ukończenia daty ważności, kiedy są przechowywane w temperaturze 2-8°C. Odczynniki przechowywane na systemach Synchron CX/LX i UniCel Dx.C nadają się do użytku przez 35 dni.

Oznaki zepsucia się odczynnika:

- Zmętnienie
- Nie można uzyskać wartości kontrolnych w wyznaczonym przedziale
- znacznik "BL ABS HI"

POBIERANIE I PRZECHOWYWANIE PRÓBEK

Surowica: Należy używać surowicy bez śladów hemolizy.

Osocze: Li-heparyna lub Na-heparyna.

Mocz: Ważne są próbki zebrane zarówno losowo jak i w regularnych odstępach czasu.⁴

Przechowywanie: α -amylaza jest wyjątkowo stabilna, a próbki surowicy mogą być przechowywane przez co najmniej 4 dni w temperaturze pokojowej i co najmniej 2 tygodnie w temperaturze 4°C.³ Próbki moczu są stabilne przez 7 dni gdy przechowywane są w temperaturze 4°C. Jeśli spodziewane jest opóźnienie w transporcie próbek moczu do laboratorium, zaleca się zapobiegawcze użycie konserwantu takiego jak Mertiolat (0,24 mmol/l).⁴

SUBSTANCJE DOSTARCZONE

- Thermo Scientific Amylaza EPS-G7 dla Beckman Coulter Synchron CX/LX i UniCel Dx.C Systems.

POTRZEBNY DODATKOWY SPRZĘT, ALE NIE DOSTARCZONY

- analyzer chemiczny Beckman Coulter Synchron CX/LX i UniCel Dx.C.
- miareczki do próbek Beckman Coulter.
- oznaczone kontrole prawidłowe i nieprawidłowe.

PROCES TESTOWANIA

Załaduj odczynnik do urządzenia według wskazówek zawartych w Instrukcji obsługi. Zaprogramuj próbki i parametry analizy, według wskazówek zawartych w Instrukcji obsługi. Odnośnie parametrów systemu Synchron CX/LX i UniCel Dx.C sprawdź w ulotce dołączonej do tego opakowania.

KALIBRACJA

Kalibracja nie jest wymagana. Systemy Synchron CX/LX i UniCel Dx.C oblicza aktywności U/L poprzez iloczyn zmierzonej szybkości reakcji oraz zaprogramowanego współczynnika obliczeń (sprawdź parametry systemu w ulotce dołączonej do opakowania). Współczynnik obliczeń został ustalony tak, by zapewnić wykrywalność referencyjnej procedury pomiaru amylazy IFCC.³

OBLICZANIE WYNIKÓW

Wyniki są obliczane automatycznie przez systemy Synchron CX/LX i UniCel Dx.C

Zamiana Jednostki: U/l x 16,67 x 10⁻³ = μ kat/l.

KONTROLA JAKOŚCI

W celu zapewnienia należytej kontroli jakości należy wykonać badanie zmianowanego materiału kontrolnego normalnego i patologicznego, jako normalnych próbek badanych:

- Conajmniej raz dziennie lub wg ustaleń laboratorium.
- Jeśli używany jest nowy nabój z odczynnikiem.
- Po przeprowadzeniu czynności konserwacyjnych albo wymianie istotnego elementu przyrządu.

Wyniki badań materiału kontrolnego wykraczające poza górną albo dolną granicę wyznaczonego zakresu sugerują błąd pomiaru. W takiej sytuacji zaleca się następujące działania korygujące:

- Powtórzyć test na tych samych kontrolach.
- Jeśli wyniki powtórzonego testu nadal wykraczają poza dopuszczalny zakres, przygotować świeżą surowicę kontrolną i powtórzyć test.
- Jeśli rezultaty na świeżym materiale kontrolnym nadal wykraczają poza limity, należy powtórzyć badanie ze świeżym odczynnikiem.
- Jeśli wyniki nadal wykraczają poza dopuszczalny zakres, skontaktować się z Pomocą Techniczną albo lokalnym dystrybutorem.

OGRANICZENIA

- Badania specyficzności analitycznej w celu wyznaczenia poziomu zakłóceń w składzie próbek były prowadzone na CX oraz LX/DxC. Nie zaobserwowano żadnych zakłóceń poniżej następujących limitów koncentracji substancji zakłócających (kryterium zaliczenia, wstępna wartość kontrolna ± 10%):

	LX/DxC	CX
Hemoglobina	900 mg/dl	1000 mg/dl
Lipemia (używając Intralipidu)	2000 mg/dl	1000 mg/dl
Glukoza	2160 mg/dl	2160 mg/dl
Bilirubina niezwiązana	60 mg/dl	60 mg/dl
Bilirubina związana	60 mg/dl	60 mg/dl
Kwas askorbinowy	200 mg/dl	200 mg/dl

OCZEKIWANE WARTOŚCI[†]

Surowica/Osocze: w temp 37°C 28 - 100 U/l (0,468 - 1,67 μ kat/l)

* Mocz – Mężczyzna w temp 37°C 16 - 491 U/l (0,267 - 8,18 μ kat/l)

* Mocz – Kobieta w temp 37°C 21 - 447 U/l (0,350 - 7,45 μ kat/l)

* Oczekiwane wartości moczu zostały obliczone na podstawie przypadkowo wybranych próbek

DODATKOWE INFORMACJE

Ze względu na to, że Beckman Coulter nie jest producentem odczynnika, ani też nie dokonuje jego kontroli jakości czy badań na poszczególnych partiach, Beckman Coulter nie ponosi odpowiedzialności za jakość otrzymanych danych powstałych w wyniku działania odczynnika, za zmiany tych danych pomiędzy partiami odczynnika, ani też za zmiany wyniku z dokonanych przez producenta zmian protokołów.

USZKODZENIA PODCZAS TRANSPORTU

Jeśli otrzymany produkt jest wadliwy, powiadom Centrum Wsparcia Klinicznego Beckman Coulter.

OCENA DZIAŁANIA

Przy użyciu Thermo Scientific odczynnika amylazy EPS-G7 na urządzeniu Beckman Coulter Synchron CX/LX i UniCel Dx.C, zgodnie z ustalonymi procedurami, otrzymano następujące dane.

ZAKRES OZNACZEŃ

Kiedy test jest wykonany zgodnie z instrukcją, zakres pomiaru ze wszystkimi zalecanymi kombinacjami próbek przedstawia się następująco:

LX/DxC: 4 - 2000 U/l (0,067 - 33,3 µkat/l)
 CX: 4 - 1800 U/l (0,067 - 30,0 µkat/l)

LIMIT DETEKCJI

Wartość graniczna wykrywalności to najniższy mierzalny poziom analitu znacząco różny od zera. Obliczana jest jako wartość leżąca dwa odchylenia standardowe powyżej średniej oszacowanej dla próbki czystej. Wartość graniczna wykrywalności, jeśli przeprowadzono zgodnie z zaleceniami, wynosi:

LX/DxC: 4 U/l (0,067 µkat/l)
 CX: 4 U/l (0,067 µkat/l)

NIEPRECYZYJNOŚĆ POMIARU

Dokładność oszacowano zgodnie z wytyczną NCCLS (CLSI) EP5-A2.⁶ Badania dot. typowej wydajności na dobrze utrzymanym analizatorze były przeprowadzane w tym samym miejscu przez okres 20 dni (40 prób) korzystając z trzech poziomów powszechnie dostępnej i kontrolowanej jakościowo surowicy oraz z dwóch poziomów kontrolowanego jakościowo moczu. Dwie próby dziennie były wykonywane przez tego samego operatora, na tych samych zestawach odczytników i na pojedynczych analizatorach CX i LX/DxC.

LX/DxC	Surowica						Mocz				
	POZIOM I		POZIOM II		POZIOM III		POZIOM I		POZIOM 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		
Średnia	69	1,15	289	4,82	800	13,3	53	0,884	155	2,58	
Wewnątrz Serii	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	
Suma	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	Surowica						Mocz				
	POZIOM I		POZIOM II		POZIOM III		POZIOM I		POZIOM 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		
Średnia	70	1,17	285	4,75	810	13,5	54	0,900	157	2,62	
Wewnątrz Serii	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	
Suma	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	

PORÓWNIANIE METODY

Studia porównawcze przeprowadzono zgodnie z wytyczną NCCLS (CLSI) EP9-A2.⁷ Jako metody referencyjnej (X) użyto powszechnie dostępnego odczynnika amylazy EPS-G7, stosując zalecane ilości na analizatorze Roche Hitachi 911[®]. Metoda testowa (Y) została uruchomiona wraz z zalecanymi ilościami na analizatorach Beckman Coulter Synchron CX/LX i UniCel DxC. Próbkę surowicy/osocza oraz moczu zostały oznaczone równolegle przy pomocy metod testowej i referencyjnej, a wyniki porównane przy użyciu regresji Deming'a. Uzyskano następujące statystyki:

LX/DxC	Surowica/Osocze		Surowica		Osocze		Mocz	
	U/l	µkat/l	U/l	µkat/l	U/l	µkat/l	U/l	µkat/l
n	111		70		41		106	
Zakres	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-Średnia	410	6,83	400	6,68	428	7,15	400	6,67
Y-Średnia	396	6,60	386	6,45	414	6,91	403	6,72
Współczynnik regresji	0,975		0,973		0,979		1,027	
Wolny wyraz	-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	Surowica/Osocze		Surowica		Osocze		Mocz	
	U/l	µkat/l	U/l	µkat/l	U/l	µkat/l	U/l	µkat/l
n	111		70		41		99	
Zakres	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-Średnia	410	6,83	400	6,68	428	7,15	332	5,53
Y-Średnia	395	6,58	386	6,45	411	6,86	350	5,83
Współczynnik regresji	0,972		0,970		0,975		1,065	
Wolny wyraz	-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	

Studia porównawcze zostały przeprowadzone również w ten sam sposób jak opisano powyżej, przy użyciu odczynnika amylazy BCI jako metody referencyjnej (X). Uzyskano następujące statystyki:

LX/DxC	Surowica/Osocze		Mocz	
	U/l	µkat/l	U/l	µkat/l
n	110		101	
Zakres	29 - 797	0,483 - 13,3	27 - 779	0,450 - 13,0
X-Średnia	191	3,18	292	4,87
Y-Średnia	152	2,53	227	3,78
Współczynnik regresji	0,791		0,726	
Wolny wyraz	0,5	0,008	15,1	0,252
r	0,9987		0,9983	

CX	Surowica/Osocze		Mocz	
	U/l	µkat/l	U/l	µkat/l
n	112		110	
Zakres	29 - 798	0,483 - 13,3	31 - 773	0,517 - 12,9
X-Średnia	219	3,65	289	4,82
Y-Średnia	181	3,02	234	3,90
Współczynnik regresji	0,830		0,775	
Wolny wyraz	-0,6	-0,010	10,0	0,167
r	0,9975		0,9963	

Odczynnik Amylazy EPS-G7

dla Systemów[‡] Beckman Coulter[™] SYNCHRON[®] i UniCel[®]

Parametr systemu

PARAMETRY URZĄDZENIA:

	Synchron CX	Synchron LX/UniCel DxC
Nazwa badania:	AMYX	AMYX
Rodzaj reakcji:	Szybkość 1	Szybkość 1
Jednostki:	U/l	U/l
Dokładność dziesiętna:	X	X
Kierunek reakcji:	DODATNI	DODATNI
Model matematyczny:	Liniowy	Liniowy
Czynnik przeliczania:	6220	6220
Limit czasu kalibracji:	0	0
Liczba kalibratorów:	0	0
1		
2		
3		
4		
5		
6		
Długość fali pierwotnej:	410	410
Długość fali wtórnej:	560	560
Objętość próbki:	7 µl	7 µl

ODCZYNNIKI:

Iniekcja pierwotna (pierwsza)/Pierwsza iniekcja

Przedział/Komponent:	A	A
Objętość/Objętość dozowania:	175 µl	175 µl
Czas dodawania/Czas iniekcji:	0 sek	0 sek

Iniekcja pierwotna (pierwsza)/Druga iniekcja

Przedział/Komponent:	B	B
Objętość/Objętość dozowania:	35 µl	35 µl
Czas dodawania/Czas iniekcji:	0 sek	-180 sek

Iniekcja wtórna/Trzecia iniekcja

Przedział/Komponent:	Brak	Brak
Objętość/Objętość dozowania:	0	0
Czas dodawania/Czas iniekcji:	nie dotyczy	nie dotyczy

ODCZYNNIKI:

Puste pole

Początek odczytu:	220 sek	-80 sek
Koniec odczytu:	280 sek	-20 sek

Reakcja 1

Początek odczytu:	180 sek	180 sek
Koniec odczytu:	270 sek	300 sek

Reakcja 2

Początek odczytu:	nie dotyczy	nie dotyczy
Koniec odczytu:	nie dotyczy	nie dotyczy

Odczynnik Amylazy EPS-G7

dla Systemów[‡] Beckman Coulter[™] SYNCHRON[®] i UniCel[®]


Parametr systemu

PARAMETRY URZĄDZENIA:	Synchron CX	Synchron LX/UniCel DxC
ZAKRES WYNIKU UŻYTECZNEGO:		
Granica dolna:	4	4
Granica górna:	1800	2000
LIMITY DETEKCJI BŁĘDU:		
Odczynnik puste pole/Puste pole		
Granica dolna ABS:	-0,100	-0,100
Granica górna ABS:	0,250	0,250
Dolna granica szybkości:	nie dotyczy	-1,500
Górna granica szybkości:	nie dotyczy	2,200
Średnie odchylenie standardowe:	nie dotyczy	2,200
Reakcja/Reakcja 1		
Granica dolna ABS:	-0,100	-0,100
Granica górna ABS:	1,500	2,200
Dolna granica szybkości:	nie dotyczy	-1,500
Górna granica szybkości:	nie dotyczy	2,200
Średnie odchylenie standardowe:	nie dotyczy	2,200
Reakcja 2		
Granica dolna ABS:	nie dotyczy	-1,500
Granica górna ABS:	nie dotyczy	2,200
Dolna granica szybkości:	nie dotyczy	-1,500
Górna granica szybkości:	nie dotyczy	2,200
Średnie odchylenie standardowe:	nie dotyczy	2,200
UTRATA SUBSTRATU:		
Wielkość początkowa:	99,999	99,999
Delta ABS:	1,500	2,200
ROZPIĘTOŚĆ WIELOPUNKTOWA:	nie dotyczy	nie dotyczy

PIŚMIENNICTWO

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 catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 8. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of α -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



SYMBOLE NA ETYKIETACH PRODUKTU

	Autoryzowany przedstawiciel		Ograniczenia temperaturowe
	Do użytku diagnostycznego in vitro		Data ważności
	Numer partii		UWAGA. Należy zapoznać się z instrukcją użytkownika.
	Numer katalogowy		Producent
	Należy zapoznać się z instrukcją użytkownika		Odczynnik B
	Odczynnik A		Jednorazowe