

### 12 Προβλεπόμενη χρήση

Για τον ποσοτικό κινητικό προσδιορισμό της α-αμυλάσης σε ανθρώπινο ορό με τη χρήση του αναλυτή Yumizen C560. **Rx Only.**

### Κλινική σημαντικότητα

Ο προσδιορισμός της δραστηριότητας της αμυλάσης στον ορό εκτελείται τις περισσότερες φορές για τη διάγνωση και τη θεραπεία παθήσεων του παγκρέατος.

### Ιστορικό μεθόδου

Η αμυλάση μετρήθηκε ποσοτικά για πρώτη φορά μέσω μιας ιωδομετρικής μεθόδου που παρουσιάστηκε από τον Wohlgemuth το 1908.<sup>1</sup> Ο Somogyi παρουσίασε μια διαδικασία το 1938 στην οποία τυποποιήθηκαν οι ποσότητες αμύλου και ιωδίου.<sup>2</sup> Το έργο του αποτέλεσε τη βάση για την ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδο διάσπασης του αμύλου και τη συγκρισιμότητα μέθοδο το 1956<sup>3</sup> και το 1960,<sup>4</sup> αντίστοιχα. Στα μειονεκτήματα αυτών των μεθόδων περιλαμβάνονται οι μεγάλοι χρόνοι επώασης, η ενδογενής παρεμβολή της γλυκόζης και η αστάθεια των χρωμάτων της αντίδρασης που έχουν ως αποτέλεσμα χαμηλή αναπαραγωγιμότητα και αξιοπιστία.

Οι Rinderknecht et al παρουσίασαν το 1967 μια μέθοδο με άμυλο συζευγμένο με χρωστική<sup>5</sup> η οποία ήταν σχετικά απλή στην εκτέλεσή της. Ωστόσο, η διαδικασία χρησιμοποίησε ένα αδύνατο υπόστρωμα, το οποίο δεν παρουσίαζε γραμμικότητα και εξακολουθούσε να απαιτεί φυγοκέντρηση ή διήθηση.

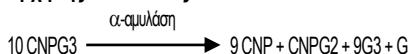
Έχουν παρουσιαστεί και θολωσιμετρικές διαδικασίες<sup>6</sup> οι οποίες είναι σχετικά γρήγορες, αλλά απαιτούν ειδικά όργανα και παρουσιάζουν δυσκολίες στην παραγωγή σταθερών και αναπαραγωγίμων διαλυμάτων αμύλου.

Έχουν προταθεί διάφορες ενζυμικές διαδικασίες<sup>7,8</sup> συμπεριλαμβανομένης μίας που χρησιμοποιούσε καθορισμένο υπόστρωμα μαλτοτραζίνης.<sup>9</sup> Οι μέθοδοι αυτές αποτέλεσαν σημαντική βελτίωση στις διαδικασίες μέτρησης της αμυλάσης, αλλά εξακολουθούσαν να έχουν σχετικά μεγάλους χρόνους πριν από την επώαση, είχαν πιθανότητες για ενδογενείς παρεμβολές γλυκόζης και μια σειρά από άλλες πιθανές παρεμβολές με τον σχηματισμό NADH.<sup>10</sup>

Οι Wallenfels et al<sup>11</sup> παρουσίασαν τους p-νιτροφαινόλη γλυκοζύδες ως καθορισμένα υποστρώματα για τον προσδιορισμό α-αμυλάσης σε μια διαδικασία που εξάλειψε τις παρεμβολές από ενδογενή γλυκόζη και πυροσαφικό οξύ. Έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορα ένζυμα σύζευξης για την υδρόλυση της βραχείας αλυσίδας ολιγοσακχαριτών που προκύπτουν από τη δραστηριότητα της αμυλάσης στο δείγμα. Δυστυχώς, αυτά τα ένζυμα σύζευξης παρουσίαζαν δραστηριότητα υπολειπόμενης αμυλάσης που επηρέαζε αρνητικά τη σταθερότητα αυτών των αντιδραστηρίων.

Η παρούσα μέθοδος βασίζεται στη χρήση ενός χρωμασιμένου υποστρώματος, 2-χλωρο-p-νιτροφαινόλης συνδεδεμένης με μαλτοτριζή. Η αντίδραση της αμυλάσης με αυτό το υπόστρωμα έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό 2-χλωρο-p-νιτροφαινόλης, η οποία μπορεί να μετρηθεί φασματοφωτομετρικά στα 405 nm. Αυτή η αντίδραση εξελίσσεται πολύ γρήγορα, δεν απαιτούνται ένζυμα σύζευξης και η αντίδραση δεν αναστέλλεται άμεσα από ενδογενείς παράγοντες.

### Αρχή της διαδικασίας



Η α-αμυλάση υδrolύει τη 2-χλωρο-p-νιτροφαινόλη-α-D-μαλτοτρισιδίδη (CNP3) για την απελευθέρωση 2-χλωρο-p-νιτροφαινόλης και τον σχηματισμό 2-χλωρο-p-νιτροφαινόλης (CNP2), μαλτοτριζίνης (G3) και γλυκόζης (G). Ο ρυθμός αύξησης της απορροφητικότητας μετράται στα 405 nm και είναι ανάλογος της δραστηριότητας της α-αμυλάσης στο δείγμα.

### Αντιδραστήρια

Ρυθμιστικό διάλυμα MES, pH 6,0±0,1, 2-χλωρο-p-νιτροφαινόλη-α-D-μαλτοτρισιδίδη 1,8 mM, χλωριούχο νάτριο 350 mM, οξικό ασβέστιο 6 mM, θεικασιακό κάλιο 900 mM, αζίδιο του νατρίου 0,1% (Βλ. "Προφυλάξεις").

### Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Το αντιδραστήριο παρέχεται ως έτοιμο για χρήση υγρό. Δεν απαιτείται προετοιμασία.

### Αποθήκευση και σταθερότητα αντιδραστηρίου

Φυλάσσετε το αντιδραστήριο σε θερμοκρασία 2 – 8°C. Το αντιδραστήριο είναι σταθερό μέχρι την ημερομηνία λήξης αν έχουν φυλαχτεί σύμφωνα με τις οδηγίες. Μόλις τοποθετηθεί στον περιστρεφόμενο δίσκο αντιδραστηρίων υπό ψύξη (2 – 10°C), το αντιδραστήριο είναι σταθερό για 30 ημέρες.

### Αλλοίωση αντιδραστηρίου

Μην χρησιμοποιείτε το προϊόν εάν:

1. Η απορρόφηση του αντιδραστηρίου εργασίας είναι μεγαλύτερη από 0,600 όταν μετράται στα 405 nm σε σχέση με νερό σε μια κυβέτα με μήκος διαδρομής 1 cm.
2. Το αντιδραστήριο δεν πληροί τις αναφερόμενες παραμέτρους απόδοσης.
3. Το αντιδραστήριο παρουσιάζει θολερότητα ή άλλη ένδειξη βακτηριακής μόλυνσης.

### Προφυλάξεις και κίνδυνοι

1. Αυτό το kit αντιδραστηρίων προορίζεται μόνο για *in vitro* διαγνωστική χρήση.
2. Αυτό το αντιδραστήριο περιέχει αζίδιο του νατρίου (0,1%) ως συντηρητικό. Απαγορεύεται η κατάποση. Μπορεί να αντιδράσει με τον μόλυβδο και τον χαλκό των υδραυλικών σωληνώσεων, σχηματίζοντας εξαιρετικά εκρηκτικά αζίδια μετάλλου. Κατά την απόρριψη, ξεπλύνετε με μεγάλη ποσότητα νερού ώστε να αποτραπεί η συσσώρευση αζιδίου.
3. Όλα τα δείγματα και οι μάρτυρες πρέπει να αντιμετωπίζονται ως πιθανώς μολυσματικοί παράγοντες και ο χειρισμός τους πρέπει να γίνεται με ασφαλείς εργαστηριακές διαδικασίες. (NCCLS M29-T2)<sup>12</sup>

### Κίνδυνοι:

**Κατηγοριοποιήσεις κινδύνων:** Επικίνδυνο για το υδάτινο περιβάλλον, μακροπρόθεσμος κίνδυνος, Κατηγορία 4

**Δηλώσεις κινδύνου:** H413: Μπορεί να προκαλέσει μακροχρόνιες επιπτώσεις στους υδρόβιους οργανισμούς.

**Δηλώσεις προφύλαξης:** Πρόληψη: P273: Να μην απορρίπτεται στο περιβάλλον. P280: Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδυματίαι/απομνηστική προστασίας για τα μάτια. Αντίδραση: P391: Μαζέψτε τη χυμένη ποσότητα. Επικίνδυνο για το υδάτινο περιβάλλον. Φύλαξη: P404: Φυλάσσετε σε κλειστό περιέκτη. Απόρριψη: P501: Απορρίψτε το περιεχόμενο σε εγκεκριμένη εγκατάσταση απόρριψης αποβλήτων.

Ανατρέξτε στο Δελτίο δεδομένων ασφαλείας για το συγκεκριμένο προϊόν (SDS-A7564) το οποίο μπορείτε να προμηθευτείτε καλώντας στο 1-734-487-8300.

### Συλλογή και χειρισμός δειγμάτων

1. Προτιμάται η χρήση μη αιμολυμένου δείγματος ορού. Τα δείγματα πρέπει να συλλέγονται σύμφωνα με το έγγραφο NCCLS H4-A3.<sup>13</sup>
2. Αντιπηκτικά, όπως το κινικό και το EDTA, δεσμεύουν το ασβέστιο που είναι απαραίτητο για τη δραστηριότητα της αμυλάσης. Δεν πρέπει να χρησιμοποιείται πλάσμα που περιέχει αυτά τα αντιπηκτικά.
3. Η αμυλάση στον ορό αναφέρεται σταθερή για μία εβδομάδα σε θερμοκρασία δωματίου (18 – 25°C) και για δύο μήνες όταν φυλάσσεται υπό ψύξη σε θερμοκρασία 2 – 8°C.<sup>14</sup>

### Αλληλεπιδράσεις

1. Ορισμένα φάρμακα και ουσίες επηρεάζουν τον προσδιορισμό της αμυλάσης.<sup>15,16</sup> Οι Young et al έχουν δημοσιεύσει μια πλήρη λίστα τέτοιων ουσιών.<sup>17</sup>
2. Η μακροαμυλάση στο δείγμα μπορεί να προκαλέσει μέτρηση μακροαμυλασαιμίας, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε εσφαλμένη διάγνωση οξείας παγκρεατίτιδας. Ωστόσο, με τη μακροαμυλασαιμία συνήθως δεν σχετίζονται κλινικά συμπτώματα.<sup>18</sup>



Προειδοποιητική λέξη:  
Προειδοποίηση

# Σετ αντιδραστηρίων Pointe Amylase (CNP3)

3. Η χολερυθρίνη (30 mg/dL) και η αιμοσφαιρίνη (500 mg/dL) καταδείχθηκε ότι έχουν αμελητέα επίδραση σε αυτήν τη διαδικασία.
4. Τα λπαιμικά δείγματα έως 1000 mg/dL έχει αναφερθεί ότι δεν έχουν επίδραση στους προσδιορισμούς αμυλάσης ορού.<sup>19</sup>

## Παρεχόμενα υλικά

Αντιδραστήριο αμυλάσης (CNP3).

## Απαιτούμενα υλικά που δεν παρέχονται

1. Αναλυτής Yumizen C560 και εγχειρίδιο λειτουργίας
2. Chemistry control, αριθμός καταλόγου C7592-100

## Περιορισμοί

1. Τα δείγματα που υπερβαίνουν το όριο γραμμικότητας (2000 U/L) πρέπει να αραιώνονται με ίσο όγκο φυσιολογικού ορού, να υποβάλλονται εκ νέου σε διαδικασία προσδιορισμού και τα αποτελέσματα πρέπει να πολλαπλασιάζονται δύο.
2. Η μακροαμυλάση στο δείγμα ενδέχεται να προκαλέσει μέτρηση μακροαμυλασαιμίας η οποία μπορεί να οδηγήσει σε εσφαλμένη διάγνωση οξείας παγκρεατίτιδας. Ωστόσο, με τη μακροαμυλασαιμία συνήθως δεν σχετίζονται κλινικά συμπτώματα.<sup>18</sup>

## Βαθμονόμηση

Η διαδικασία τυποποιείται μέσω της χλιοστομοριακής απορροφητικότητας της 2-χλωρο-ρ-νιτροφαινόλης που είναι 12,9 στα 405 nm υπό τις συνθήκες εξέτασης που περιγράφονται.

## Ποιοτικός έλεγχος

Η εγκυρότητα της αντίδρασης πρέπει να παρακολουθείται μέσω της χρήσης ορών μάρτυρα με γνωστές φυσιολογικές και μη φυσιολογικές τιμές αμυλάσης. Οι μάρτυρες αυτοί πρέπει να υποβάλλονται σε ανάλυση τουλάχιστον σε κάθε βάρδια στην οποία διενεργούνται δοκιμασίες προσδιορισμού αμυλάσης. Συνιστάται κάθε εργαστήριο να καθορίζει τη δική του συχνότητα προσδιορισμού με μάρτυρες. Πρέπει να καθιερωθούν απαιτήσεις ποιοτικού ελέγχου σε συμμόρφωση με τους τοπικούς, κρατικούς, ή/και ομοσπονδιακούς κανονισμούς ή τις απαιτήσεις πιστοποίησης.

## Αναμενόμενες τιμές

Όρος: 25 – 125 U/L για παρεμφερή κινητική μέθοδο.<sup>20</sup> Καθώς οι αναμενόμενες τιμές επηρεάζονται από την ηλικία, το φύλο, τη διατροφή και τη γεωγραφική θέση, συνιστάται ιδιαίτερα κάθε εργαστήριο να καθορίζει το δικό του εύρος τιμών για αυτήν τη διαδικασία.

## Επίδοση

1. Εύρος δοκιμασίας προσδιορισμού: 1 – 2000 U/L
2. Σύγκριση: Πραγματοποιήθηκε μια μελέτη μεταξύ του αναλυτή Yumizen C560 και παρόμοιου αναλυτή και παρόμοιου μεθόδου, με το εξής αποτέλεσμα:

Μέθοδος	Αμυλάση
N	85
Μέση τιμή αμυλάσης (U/L)	127,2
Εύρος τιμών (U/L)	9-1856
Τυπική απόκλιση	257,0
Ανάλυση παλινδρόμησης	$y = 0,974x - 6,5$
Συντελεστής συσχέτισης	0,9981

3. Ακρίβεια: Οι μελέτες ακριβείας εκτέλεση στον αναλυτή Yumizen C560 βάσει μιας τροποποίησης των κατευθυντήριων οδηγιών που περιέχονται στο έγγραφο NCCLS EP5-T2.<sup>21</sup>

Δείγμα	Εντός ημέρας		
	LOW	MID	HIGH
N	20	20	20
Μέση τιμή	237,9	679,9	1918,5
Τυπική απόκλιση	0,9	6,8	6,1
Συντελεστής διακύμανσης (%)	0,4%	1,0%	0,3%

Δείγμα	Σύνολο		
	LOW	MID	HIGH
N	40	40	40
Μέση τιμή	242,9	558,6	1988,0
Τυπική απόκλιση	6,3	17,2	37,6
Συντελεστής διακύμανσης (%)	2,6%	3,1%	1,9%

4. Ευαισθησία: 2SD όριο ανίχνευσης (εμπισ. 95%) = 1 U/L

## Βιβλιογραφία

1. Wohlegemuth, J., Bio Chem. 29:1 (1908).
2. Somogyi, M., J. Biol Chem. 125:399 (1938).
3. Street, H.V., Close, J.R., Clin Chim Acta 1:256 (1956).
4. Henry, R.J., Chiamoni, N., Clin. Chem. 6:434 (1960).
5. Rinderknecht, H.P., et al, Experientia 23:805 (1967).
6. Zinterhofer, L., et al, Clin. Chem. Acta 43:5 (1973).
7. Tietz, N.W., et al, Abs. of Proc. Of Intl Seminar and Workshop on Enzymology, Chicago, IL (May 1972).
8. Schwara, H.W., Arztl. Lab 17:340 (1971).
9. Pierre, K.J., et al, Clin. Chem. 22:1219 (1976).
10. Kaufman, R.A., Tietz, N.W., Clin. Chem. 26:7:851 (1980).
11. Wallenfels, K., et al, Carbohydrate Research 61:359 (1978).
12. NCCLS document "Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue", 2<sup>nd</sup> Ed. (1991).
13. NCCLS document "Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Skin Puncture", 3<sup>rd</sup> Ed. (1991).
14. Tietz, N.W. Textbook of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders Company, pp. 725-734 (1986).
15. Elking, M.P., Kobot, H.J., Amer. J. Hosp. Pharm. 25:485 (1968).
16. Bogoch, A., et al, Gastroenterology 26:697 (1954).
17. Young, D.S., et al, Clin Chem 21:1D (1975).
18. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders Company, p. 627 (1982).
19. Young, D.S. and Friedman, D.S., Effects of Disease on Clinical Laboratory Tests, 2<sup>nd</sup> Ed., AACC Press (1989).
20. Tietz, N.W., Clinical Guide to Laboratory Tests, Philadelphia, W.B. Saunders Company, p. 54 (1983).
21. Έγγραφο NCCLS "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2<sup>nd</sup> Ed. (1992).

ΧΗΜΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ

Χημ.:	AMYL	κατ.:	204	Τύπος δείγματος:	Ορός
Χημικό στοιχείο:	Αμυλάση			Πλήρης ονομασία:	AMYL
Τύπος αντίδρασης:	Κινητική			Κατεύθυνση αντίδρασης:	Θετική
Πρωτεύον κύμα:	412			Δευτερεύον κύμα:	
Μονάδα:	U/L			Δεκαδικό	0
Χρόνος τυφλού:	0	0		Χρόνος αντίδρασης:	19 33
	Όγκος δείγματος	Αναρροφημένο	Αραιωτικό	Όγκος αντιδραστήριου	Αραιωτικό
Πρότυπο:	3,0 uL	-- uL	-- uL	R1:	120 uL -- uL
Μειωμένο:	-- uL	-- uL	-- uL	R2:	-- uL -- uL
Αυξημένο:	-- uL	-- uL	-- uL	R3:	-- uL -- uL
	<input type="checkbox"/> Τυφλό δείγματος	<input checked="" type="checkbox"/> Αυτόματη εκ νέου ανάλυση		R4:	-- uL --- uL
<b>Ρύθμιση κλίσης/μετατόπισης</b>					
Κλίση: 1		Μετατόπιση: 0			

Εύρος γραμμικότητας (Πρότυπο)	1	2000	Όριο γραμμικότητας:	0.3
Εύρος γραμμικότητας (Μειωμένο)	---	---	Μείωση υποστρώματος:	25000
Εύρος γραμμικότητας (Αυξημένο)	---	---	Μικτή απορρόφηση τυφλού:	
Απορρόφηση τυφλού R1:	---	---	Χρόνος αφαίρεσης πωμάτων	
Απόκριση τυφλού:	---	---	Όριο συναγεμού αντιδραστήριου:	
Διπλές χημείες:			<input type="checkbox"/> Γραμμική ενζυμική επέκταση	
<input type="checkbox"/> Έλεγχος προζώνης		<input type="checkbox"/> Έλεγχος ρυθμού	<input type="checkbox"/> Προσθήκη αντιγόνου	
Q1:		Q2:		Q3:
PC:		ABS:		Q4:

# Σετ αντιδραστηρίων Pointe Amylase (CNP3)

## ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ

<b>Ορισμός βαθμονομητή</b>						
Βαθμονομητής:	*	Αρ. παρτίδας:	*			
Ημ. Λήξης:	*					
<b>Περιστρεφόμενος δίσκος</b>		<b>Θέση</b>				
Περιστρεφόμενος δίσκος δειγμάτων 1	*					
Περιστρεφόμενος δίσκος δειγμάτων 2						
Περιστρεφόμενος δίσκος δειγμάτων 3						
<b>Αντιδραστήριο/Βαθμονόμηση</b>						
<u>Βαθμονομητής</u>	<u>Θέση</u>	<u>Αρ. παρτίδας</u>	<u>Ημ. Λήξης</u>	<u>Χημ.</u>	<u>Συγκ.</u>	<u>Μονάδα</u>
Νερό	W	*	*	AMYL	0	U/L
<b>Ρύθμιση βαθμονόμησης</b>						
Χημ.:	AMYL					
<b>Ρυθμίσεις βαθμονόμησης</b>						
Μαθηματικό μοντέλο:	Συντελεστής K					
Συντελεστής:	3178	Επαναλήψεις:	1			
<b>Αποδεκτά όρια</b>						
Χρόνος βαθμ.:	24	Ωρα				
Διαφ. κλίσης:	--	SD:	--			
Ευαισθησία :	--	Επαναληψιμότητα:	--			
Συντ. προσδ.:	--					
<b>Αυτόματη βαθμ.</b>						
<input type="checkbox"/> Μεταβολή φιάλης	<input type="checkbox"/> Μεταβολή παρτίδας	<input type="checkbox"/> Χρόνος βαθμ.				

Συνιστάται η καθημερινή δοκιμασία προσδιορισμού τουλάχιστον δύο επιπέδων υλικού μάρτυρα.

\* Υποδεικνύει παράμετρο που ορίζεται από τον χρήστη.

**REF** 14-A7564-120



Παρασκευάζεται από την HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand  
5449 Research Drive Canton, MI 48188



2°C 8°C



### Αντιδραστήρια πιστοποιημένα ως προς την απόδοση

Τα αντιδραστήρια της Pointe είναι πιστοποιημένα για παρασκευή σύμφωνα με καθορισμένες παραμέτρους. Οποιοδήποτε προϊόν αντιδραστηρίου της Pointe δεν πληροί τις προδιαγραφές έως την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης του θα αποκαθίσταται αμέσως χωρίς χρέωση.

Παρασκευάζεται από την HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand  
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρώπη:  
Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53  
1030 Brussels, ΒΕΛΓΙΟ

Τηλ.: (32)2.732.59.54 Φαξ: (32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



### Υπόμνημα συμβόλων



Χρήση έως (EEEE-MM-HH)



Παρτίδα και κωδικός παρτίδας



Αριθμός καταλόγου



Παρασκευαστής



Όρια θερμοκρασίας



Ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης



In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν

Rx Only: Χρήση μόνο με ιατρική συνταγή