

Pankreas-Amylase CC* FS**

Reagenz für die quantitative In-vitro-Bestimmung von Pankreas-Amylase in Serum, Plasma oder Urin an photometrischen Systemen

Bestellinformation

Best.-Nr.	Packungsgröße					
1 0551 99 10 021	R1	5 x	20 mL	+ R2	1 x	25 mL
1 0551 99 10 023	R1	1 x	800 mL	+ R2	1 x	200 mL
1 0551 99 10 930	R1	4 x	20 mL	+ R2	2 x	10 mL

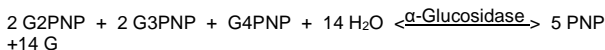
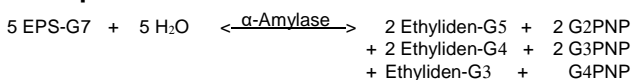
Zusammenfassung [1,2]

α -Amylasen sind hydrolytische Enzyme, die Stärke zu Maltose abbauen. α -Amylasen im menschlichen Körper entstammen verschiedenen Organen: Pankreas-Amylase wird vom Pankreas produziert und in den Darmtrakt ausgeschieden, Speichelamylase wird in den Speicheldrüsen synthetisiert und in den Speichel abgegeben. Da Pankreas- und Speichel-Amylase strukturelle Homologie von 97% zeigen, können Sie nur mit einem Test, der zwei monoklonale Antikörper zur Inhibition der Speichelamylase verwendet, hinreichend unterschieden werden. Amylase im Blut wird über die Nieren eliminiert und im Urin ausgeschieden. Daher spiegelt sich ein Anstieg der Amylaseaktivität im Serum durch einen Anstieg der Amylaseaktivität im Urin wider. Die Bestimmung der α -Amylase in Serum und Urin wird hauptsächlich durchgeführt, um Pankreaserkrankungen zu diagnostizieren und die Entwicklung von Komplikationen aufzuzeigen [1,2]. Bei akuter Pankreatitis steigt die Amylaseaktivität im Blut innerhalb weniger Stunden nach Beginn der Bauchschmerzen an, erreicht nach ca. 12 Stunden ein Maximum und fällt spätestens nach 5 Tagen wieder auf Werte innerhalb des Referenzbereichs. Obwohl Pankreas-Amylase sehr viel spezifischer für den Nachweis von Pankreaserkrankungen ist als Gesamt-Amylase, wird zur Bestätigung einer akuten Pankreatitis die zusätzliche Bestimmung von Lipase empfohlen.

Methode

Enzymatischer photometrischer Test, in dem das Substrat 4,6-Ethyliden-(G7)-p-nitrophenyl-(G1)- α -D-maltoheptaosid (EPS-G7) von α -Amylasen in verschiedene Bruchstücke zerlegt wird. Diese werden in einem zweiten Schritt von α -Glucosidase unter Bildung von Glucose und p-Nitrophenol hydrolysiert [1,2]. Die Speichelamylase wird während der Präinkubationsphase selektiv durch zwei monoklonale Antikörper gehemmt, sodass der Extinktionsanstieg nur die Aktivität der Pankreas-Amylase in der Probe anzeigt [3-5].

Prinzip



(PNP = p-Nitrophenol, G = Glucose)

Reagenzien

Bestandteile und Konzentrationen

R1:	Good-Puffer	pH 7,15	0,1 mol/L
	NaCl		62,5 mmol/L
	MgCl ₂		12,5 mmol/L
	α -Glucosidase		≥ 2,5 kU/L
	Monoklonale Antikörper gegen Speichelamylase (Maus)		≥ 31 mg/L
R2:	Good-Puffer	pH 7,15	0,1 mol/L
	EPS-G7		8,5 mmol/L

Lagerung und Haltbarkeit der Reagenzien

Die Reagenzien sind bei 2 – 8 °C bis zum Ende des auf der Packung angegebenen Verfallsmonats verwendbar, wenn nach dem Öffnen der Flaschen Kontaminationen vermieden werden. Reagenzien nicht einfrieren und vor Lichteinstrahlung schützen!

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Es kann eine Restaktivität der Speichelamylase bis zu 3 % auftreten. Sehr selten könnten extrem hohe Aktivitäten von Speichel-Amylase zu erhöhten Werten für Pankreas-Amylase führen. Speichel und Haut enthalten α -Amylase, daher niemals mit dem Mund pipettieren und Hautkontakt mit den Reagenzien vermeiden.
- Die Reagenzien enthalten Natriumazid (0,95 g/L) als Konservierungsmittel. Nicht verschlucken! Berührung mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.
- Reagenz 1 enthält tierisches Material. Behandeln Sie das Produkt als potentiell infektiös gemäß allgemein anerkannter Vorsichtsmaßnahmen und guter Laborpraxis.
- In sehr seltenen Fällen kann es bei Proben von Patienten mit Gammopathien zu verfälschten Ergebnissen kommen [10].
- Beachten Sie bitte die Sicherheitsdatenblätter und die notwendigen Vorsichtsmaßnahmen für den Gebrauch von Laborreagenzien. Für diagnostische Zwecke sind die Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Patientenvorgeschichte, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.
- Nur für professionelle Anwendung!

Entsorgung

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Vorbereitung der Reagenzien

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.

Zusätzlich benötigte Materialien

NaCl-Lösung 9 g/L

Übliche Laborausrüstung

Probenmaterial

Serum, Heparin-Plasma, EDTA-Plasma oder Urin

Haltbarkeit [8]:

in Serum/Plasma:	7 Tage	bei	20 – 25 °C
	7 Tage	bei	4 – 8 °C
	1 Jahr	bei	-20 °C
in Urin:	2 Tage	bei	20 – 25 °C
	10 Tage	bei	4 – 8 °C
	3 Wochen	bei	-20 °C

Nur einmal einfrieren! Kontaminierte Proben verwerfen!

Testschema

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

Wellenlänge	Hg 405 nm
Schichtdicke	1 cm
Temperatur	37 °C
Messung	Gegen Reagenzienleerwert (RLW)

Probe/Kalibrator	RLW	Serum/Plasma	Urin
	-	20 μ L	10 μ L
Reagenz 1	1000 μ L	1000 μ L	1000 μ L
Mischen, ca. 3 Min. inkubieren, dann zufügen:			
Reagenz 2	250 μ L	250 μ L	250 μ L
Mischen, Extinktion nach 2 Min. ablesen und Stopp-Uhr starten. Extinktion danach nach 1, 2 und 3 Min. wieder ablesen.			

Berechnung

Mit Faktor

Aus den abgelesenen Extinktionen wird $\Delta E/\text{min}$ berechnet und mit dem entsprechenden Faktor multipliziert:

$$\Delta E/\text{min} \times 5670 = \text{Pankreas-Amylase-Aktivität [U/L]}$$

Mit Kalibrator

$$P - \text{Amyl [U/L]} = \frac{\Delta E/\text{min Probe}}{\Delta E/\text{min Kalibrator}} \times \text{Konz Kalibrator [U/L]}$$

Umrechnungsfaktor

$$\text{Pankreas-Amylase [U/L]} \times 0,0167 = \text{Pankreas-Amylase [\mu\text{kat/L}]}$$

Kalibratoren und Kontrollen

Für die Kalibrierung von automatisierten photometrischen Systemen wird der DiaSys TruCal U Kalibrator empfohlen. Diese Methode ist rückführbar auf den molaren Extinktionskoeffizienten. Für die interne Qualitätskontrolle sollten DiaSys TruLab N und P Kontrollen gemessen werden. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall einer Abweichung bei der Kontrollwiederfindung festlegen.

	Bestell-Nr.	Packungsgröße
TruCal U	5 9100 99 10 063	20 x 5 mL
	5 9100 99 10 064	6 x 3 mL
TruLab N	5 9000 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9000 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9050 99 10 061	6 x 5 mL

Leistungsmerkmale

Messbereich

An automatisierten Systemen ist der Test zur Bestimmung von Pankreas-Amylase -Aktivitäten bis 2000 U/L geeignet.

Bei manueller Bestimmung ist der Test für Pankreas-Amylase -Aktivitäten geeignet, die maximal einem $\Delta E/\text{min}$ von 0,35 entsprechen.

Wird dieser Wert überschritten, sollen die Proben 1+10 mit NaCl-Lösung (9 g/L) verdünnt und das Ergebnis mit 11 multipliziert werden.

Spezifität / Interferenzen

Es treten keine Interferenzen mit Ascorbinsäure bis 30 mg/dL, Bilirubin bis 40 mg/dL, Lipämie bis 2000 mg/dL Triglyceride und Hämoglobin bis 150 mg/dL auf. Weitere Informationen zu Interferenzen finden Sie bei Young DS [9].

Testempfindlichkeit/Nachweisgrenze

Die untere Nachweisgrenze ist 5 U/L.

Präzision

In der Serie n = 20	Mittelwert [U/L]	Standard- abweichung [U/L]	VK [%]
Probe 1	69,7	2,18	3,13
Probe 2	207	2,61	1,26
Probe 3	370	3,36	0,91

Von Tag zu Tag n = 20	Mittelwert [U/L]	Standard- abweichung [U/L]	VK [%]
Probe 1	68,3	1,48	2,17
Probe 2	204	1,61	0,79
Probe 3	371	3,14	0,85

Methodenvergleich

Bei einem Vergleich von DiaSys Pankreas-Amylase CC FS (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden mit 58 Proben folgende Ergebnisse erhalten:

$$y = 0,97 x - 1,66 \text{ U/L}; r = 0,994.$$

Referenzbereich [7]

	Frauen		Männer	
	U/L	$\mu\text{kat/L}$	U/L	$\mu\text{kat/L}$
Serum/Plasma	< 53	< 0,88	< 53	< 0,88
Urin	< 319	< 5,32	< 356	< 5,93

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln.

Literatur

1. Lorentz K. α -Amylase. In: Thomas L, editor. Clinical laboratory diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p.192–202.
2. Moss DW, Henderson AR. Digestive enzymes of pancreatic origin. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p.689-98.
3. Gerber M, Naujoks K, Lenz H, Wulff K. A monoclonal antibody that specifically inhibits human salivary alpha-amylase. Clin Chem 1987; 33: 1158-62.
4. Kruse-Jarres JD, Kaiser C, Hafkenschied JC, Hohenwallner W, Stein W., Bohner J et al. Evaluation of a new alpha-amylase assay using 4,6-ethylidene-(G7)-1-4-nitrophenyl-(G1)-alpha,D-maltoheptaoside as substrate. J Clin Chem Biochem 1989; 27: 103-13.
5. Tietz NW, Burlina A, Gerhardt W, Junge W, Maffethermer P, Mural T et al. Multicenter evaluation of a specific pancreatic isoamylase assay based on a double monoclonal-antibody technique. Clin Chem 1988; 34: 2096-102.
6. Junge W, Troge B, Klein G, Poppe W, Gerber M. Evaluation of a new assay for pancreatic amylase: Performance characteristics and estimation of reference interval. Clin Biochem 1989; 22: 109-14.
7. Junge W, Wortmann W, Wilke B, Waldenstroem J et al. Development and evaluation of assays for determination of total and pancreatic amylase at 37 °C according to the principle recommended by the IFCC. Clin Biochem 2001; 34: 607-15.
8. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001. p. 16-17,50-51.
9. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
10. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007; 45(9): 1240–1243.

Hersteller



DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Straße 9 65558 Holzheim Deutschland