

REF 10217-4 4 x 39 ml

AMYLASE (AMY)

Chaque cartouche contient un volume utilisable de 39 ml de réactif.

UTILISATION PRÉVUE

Le réactif AMY EasyRA sert à déterminer l'activité de l' α -Amylase (avec de l'héparine de lithium comme anticoagulant), grâce à « l'analyseur de chimie clinique Medica EasyRA® ». Les mesures de l'amylase sont utilisées principalement dans le diagnostic et le traitement de la pancréatite (inflammation du pancréas).

Pour diagnostic *in vitro* uniquement. Réservé à un usage professionnel.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

L'amylase est une enzyme produite par les glandes exocrines, capable de rompre les liaisons 1,4- α -glucosidiques. L'amylase est sécrétée par le pancréas, puis transportée dans les canaux cholédoques jusqu'au duodénum où elle joue un rôle important dans la digestion des glucides complexes. Environ 40 % des amylases présentes dans le sérum et le plasma sains sont d'origine pancréatiques, les 60 % restants proviennent des glandes salivaires. Des taux élevés d' α -amylase dans le sérum revêtent une grande importance dans le diagnostic des pancréatites et autres affections pancréatiques.¹⁻³

PRINCIPE DE LA PROCÉDURE

Ce test mesure l'activité sérique de l' α -amylase par une méthode cinétique qui utilise du substrat chromogène 2-chloro-4-nitrophénol lié au maltotriose (CNPG3).⁴ L' α -amylase hydrolyse le substrat CNPG3 pour former du 2-chloro-4-nitrophénol (CNP), du 2-chloro-4-nitrophénol- α -D-maltoside (CNPG₂), du maltotriose (G₃) et du glucose (GLU).



Le composant CNP est mesuré par une méthode spectrophotométrique, avec une absorbance maximale à 405 nm. Le taux de formation du CNP est directement proportionnel à l'activité de l' α -amylase de l'échantillon.

RÉACTIF

2-chloro-4-nitrophénol- α -D-maltotrioside, (CNPG3)	2,25 mmol/l
Chlorure de sodium	350 mmol/l
Acétate de calcium	6,0 mmol/l
Thiocyanate de potassium	900 mmol/l
Azoture de sodium	0,1 %
Tampon MES	pH 6,0

PRÉCAUTIONS

1. Les bonnes pratiques de sécurité en laboratoire doivent être respectées lors de la manipulation des réactifs de laboratoire. (CLSI, GP17-A2).
2. Éviter d'inhaler ou tout contact avec la peau et les yeux. En cas de contact avec la peau ou les yeux, rincer avec de l'eau et consulter un médecin. Ce réactif n'est pas compatible avec des acides forts.
3. Le réactif contient 0,1 % d'azoture de sodium qui peut réagir violemment au contact du plomb et du cuivre contenus dans le système de plomberie, et former des azides métalliques explosifs. Consulter la fiche de données de sécurité pour obtenir des informations sur les risques, les dangers et la sécurité.
4. Comme pour toute procédure de test diagnostique, l'interprétation des résultats doit tenir compte des résultats de tous les autres tests ainsi que de l'état clinique du patient.
5. Ne pas utiliser de cuvettes abîmées.

INSTRUCTIONS CONCERNANT LA MANIPULATION, LE STOCKAGE ET LA STABILITÉ DU RÉACTIF

Le réactif est fourni prêt à l'emploi. Le réactif non ouvert est stable jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette, à condition d'être stocké entre 2 et 8 °C et protégé de la lumière. Le réactif ouvert, conservé à bord de l'analyseur EasyRA dans le compartiment réfrigéré du réactif, est stable pendant le nombre de jours programmés dans la puce RFID sur la cartouche de réactif. Ne pas utiliser le réactif s'il est trouble ou nuageux, ou s'il ne parvient pas à retrouver les valeurs de contrôle sérique connues.

PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS, STOCKAGE/STABILITÉ

Utiliser du sérum clair non hémolysé. Passer à la centrifugeuse et extraire le sérum ou le plasma le plus tôt possible après le prélèvement. Le sérum AMY est stable pendant 7 jours entre 18 et 25 °C, et pendant plusieurs mois entre 2 et 8 °C.⁵ Tubes héparinés au lithium peuvent servir pour la collecte de plasma.

PROCÉDURE

Matériel fourni

Cartouche de réactif Medica AMY, REF 10217

Matériel auxiliaire nécessaire

Medica EasyQC, Niveau A – Chimie/Électrolytes, REF 10793

Medica EasyQC, Niveau B – Chimie/Électrolytes, REF 10794

Cartouche de colorant pour test de précision Medica, REF 10764

Cartouche de nettoyant Medica – Chimie et électrodes sélectives, REF 10660 *ou*

Cartouche de nettoyant Medica – Chimie, REF 10661

MODE D'EMPLOI

Le réactif est fourni prêt à l'emploi. Retirer le bouchon et placer le réactif dans le plateau de l'analyseur EasyRA, situé dans le compartiment approprié de la cartouche. La stabilité (30 jours maximum) du réactif à bord est programmée dans la puce RFID sur la cartouche de réactif.

Remarque : vérifier l'absence de mousse au niveau du collet de la cartouche après avoir retiré le bouchon et placé la cartouche sur l'analyseur EasyRA. S'il y a de la mousse, procéder à son élimination à l'aide d'un écouvillon ou d'une pipette jetable avant d'effectuer le test.

Étalonnage

Non applicable.

Contrôle de qualité

Il est recommandé d'inclure deux niveaux de contrôle (normal et anormal) à base de sérum humain quotidiennement lors des tests patient et à chaque changement de numéro de lot de réactifs. Si les résultats du matériel de contrôle du dosage ne correspondent pas à l'intervalle de valeurs attendues, cela peut indiquer la présence d'une dégradation du réactif, d'un mauvais fonctionnement de l'instrument ou d'erreurs survenues au cours de la procédure. Le laboratoire doit respecter les réglementations locales, d'état et fédérales en matière de contrôle de qualité, lorsqu'il en utilise le matériel.

Résultats

Une fois le dosage terminé, l'analyseur EasyRA calcule la concentration en α -amylase à partir des modifications de l'absorbance par minute, du volume de l'échantillon, du volume réactionnel total, de la longueur de cheminement (cm) de 0,6 et de l'absorptivité molaire de 12,9.

$$\text{AMY (U/l)} = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{Volume total}(\mu\text{l}) \times 1000)}{(\text{Absorptivité molaire} \times \text{Longueur de cheminement}(\mu\text{l}) \times \text{Volume de l'échantillon}(\mu\text{l}))}$$

Valeurs attendues⁶

L'intervalle des valeurs de référence pour l'amylase sérique et plasmatique est le suivant :

Norme des valeurs : de 25 à 94 U/l (37 °C)

Ces valeurs sont fournies à titre indicatif. Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir son propre intervalle de valeurs attendues, compte tenu des différences qui existent entre les instruments, les laboratoires et les populations locales.

Limites de la procédure (si les valeurs de l'échantillon sont au-dessus de la limite supérieure de l'intervalle, par exemple)

Utiliser uniquement des échantillons de sérum non hémolysé.

Si les modifications de l'absorbance par minute ($\Delta A/\text{Min}$) sont supérieures à 0,281, ce qui correspond à environ 1 200 U/l, l'analyseur le signal par les lettres « SD » (déplétion du substrat). Si l'icône de « répétition » est sélectionnée par l'opérateur, l'échantillon peut être à nouveau testé avec la moitié (1/2) de son volume. Le calcul des résultats issus de la répétition du test prend en compte la diminution de la taille de l'échantillon. Cela aura pour conséquence d'allonger l'intervalle rapporté du dosage de l' α -amylase jusqu'à 2400 U/l.

CARACTÉRISTIQUES DES PERFORMANCES⁷

Intervalle rapporté

L'intervalle rapporté est compris entre 2 et 1 200 U/l. Il est compris entre 2 et 2 400 U/l lorsque la moitié de l'échantillon est utilisée (dilution à 1:1).

Inexactitude/corrélation (CLSI, EP9-A2)

Le tableau suivant regroupe les données obtenues lors d'une comparaison de la performance entre le réactif AMY Medica (y) avec l'analyseur EasyRA (y) et un réactif AMY semblable (x) avec l'analyseur Roche COBAS MIRA. Les données fournies ci-dessous correspondent à des dosages uniques obtenus sur l'analyseur EasyRA *versus* la moyenne des valeurs d'échantillons déterminés en double sur l'analyseur COBAS MIRA.

Nombre d'échantillons	87	Intervalle d'échantillons	2 à 1 150 U/l
Courbe	1,0433	Intersection avec l'axe des Y	5,5881
Coefficient de corrélation	0,9981	Équation de régression :	$Y = 1,0433 \cdot X + 5,5881$

Le tableau suivant regroupe les données obtenues en comparant des échantillons équivalents de sérum (x) et de plasma avec héparine de lithium (y) à l'aide du réactif AMY sur l'analyseur EasyRA. Les données ci-dessous comparent un dosage unique du plasma *versus* la moyenne des valeurs d'échantillons de sérum déterminées en double.

Nombre d'échantillons	78	Intervalle d'échantillons	de 4 à 1061 U/l
Courbe	1,0247	Intersection avec l'axe des Y	-5,1770
Corrélation	0,9985	Équation de régression	$Y = 1,0247 \cdot X + -5,1770$

**Cobas Mira est une marque déposée de Roche Diagnostics, INC., Indianapolis, IN.*

Imprécision (CLSI, EP5-A2)

Des mesures doubles de chacun des trois niveaux du matériel de contrôle de qualité ont été testées deux fois par jour pendant 20 jours. La précision intra-série et la précision totale ont été déterminées à partir de ces données.

Imprécision intra-série :

Taux du contrôle de qualité U/l	DS intra-série U/l	CV intra-série %
296	1,9	0,6
85	0,7	0,8
45	0,8	1,8

Imprécision totale :

Taux du contrôle de qualité U/l	Imprécision totale DS U/l	Imprécision totale CV %
296	2,9	1,0
85	0,9	1,1
45	0,9	1,9

Linéarité (CLSI, EP6-A)

Linéarité comprise entre 2 et 1 200 U/l, en fonction de la régression linéaire $Y = 1,0007 \cdot X + 1,2297$.

Limite du blanc (LdB) :	0,78 U/l	(CLSI, EP17-A)
Limite de détection (LD) :	1,03 U/l	(CLSI, EP17-A)

Substances interférentes (CLSI, EP7-A)

Une interférence inférieure à 10 % est désignée par « aucune d'interférence significative ».

Il existe une interférence négative significative pour un taux d'hémoglobine supérieur à 125 mg/dl. Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés.

Aucune interférence significative n'a été observée pour un taux de bilirubine allant jusqu'à 25 mg/dl.

Aucune interférence significative n'a été observée pour un taux de triglycérides allant jusqu'à 1350 mg/dl (à l'aide du produit Intralipid*).

**Intralipid est une marque déposée de Pharmacia AB à Clayton, Caroline du Nord.*

Young fournit une liste de médicaments et autres substances qui interfèrent avec les tests cliniques chimiques.^{8,9}

RÉFÉRENCES

- 1 Ranson, J.H.C., *Curr.Prob.Surg.*, 16:1 (1979).
- 2 Salt, W.B. II and Schenker, S., *Medicine* 55:269 (1976).
- 3 Stefanini, P., Ermini, M., and Carboni, M., *J. Am. Surg.*, 110:866 (1965).
- 4 Chavez, R.G., et. al. U.S. Patent 4,963, 479.
- 5 Demetriou, J. et al., *Clinical Chemistry: Principles and Techniques*, 2nd Ed., Harper & Row (1974).
- 6 Tietz NW. *Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd ed. WB Saunders and Co., Philadelphia, PA, p. 831-832 (1994).
- 7 Documentation de Medica.
- 8 Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC. AACC Press; 1997.
- 9 Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*. 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995.

Paramètres du dosage (AMY) EasyRA

Longueur d'onde (nm)	405
Mode réactionnel	Enzyme (0)
Sens réactionnel	Croissant
Blanc du réactif	Non
Blanc de l'échantillon	Non
Modif. max du premier intervalle de l'absorbance	0,11
Durée de la réaction	4 min
Intervalle d'étalonnage (maximum)	N/A

Sérum

Volume de l'échantillon (?l)	5,0
Volume du diluant (?l)	0
Volume du réactif (?l)	160
Stabilité du réactif à bord	30 jours
Emplacements décimaux (valeurs par défaut)	0
Unités (valeurs par défaut)	U/l
Facteur de dilution	1:1 (pour augmenter l'intervalle de dosage)
Linéarité	2 jusqu'à 1,200 U/l
Absorptivité molaire	12,9



Medica Corporation, 5 Oak Park Drive
Bedford, MA 01730-1413 USA



Emergo Europe, Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague, The Netherlands