

REF 10217-4 4 x 39 mL

Amilasi (AMY)

Flaconi contenenti ciascuno 39 mL di volume utilizzabile di reagente.

USO PREVISTO

Il reagente AMY EasyRA è da utilizzarsi nella misurazione quantitativa dell'attività della α -amilasi nel siero umano (con litio eparina come anticoagulante), utilizzando l'analizzatore chimico clinico MEDICA EasyRA®. Le misurazioni dell'amilasi trovano applicazione principalmente nella diagnosi e nella cura della pancreatite (infiammazione del pancreas).

Solo per uso diagnostico *in vitro*. Solo per uso professionale.

RIEPILOGO E SPIEGAZIONE

L'amilasi è un enzima prodotto dalle ghiandole esocrine con la capacità di scindere i legami 1 e 4 del glucosio. L'amilasi viene secreta dai dotti pancreatici e raggiunge, attraverso i comuni dotti biliari, il duodeno, dove riveste un ruolo fondamentale nella digestione dei carboidrati complessi. Nel siero o plasma normali, circa il 40% dell'amilasi circolante è di origine pancreatica, il resto deriva dalle ghiandole salivari. Livelli elevati di α -amilasi serica sono importanti nella diagnosi di pancreatite e di altri disordini pancreatici¹⁻³.

PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

Questo test misura l'attività dell' α -amilasi serica attraverso il metodo cinetico, usando il substrato cromogenico, 2-cloro-4-nitrofenolo legato al maltotrioso (CNPG3)⁴. L' α -amilasi idrolizza il substrato CNPG3 a 2-cloro-4-nitrofenolo (CNP), 2-cloro-4-nitrofenolo- α -D-maltoside (CNPG₂), maltotrioso (G₃) e glucosio (GLU).

α -amilasi

10 CNPG₃ ----- (9 CNP + 1 CNPG₂ + G₃ + GLU

Il componente CNP viene misurato spettrofotometricamente ad un picco di assorbanza di 405 nm. La velocità di formazione del CNP è direttamente proporzionale all'attività dell' α -amilasi nel campione.

REAGENTE

2-cloro-4-nitrofenolo- α -D-maltotrioside, (CNPG3)	2,25 mmol/L
Cloruro di sodio	350 mmol/L
Acetato di calcio	6,0 mmol/L
Tiocianato di potassio	900 mmol/L
Sodio azide	0,1%
Tampone MES	pH 6,0

PRECAUZIONI

1. Seguire sempre buone prassi di sicurezza di laboratorio quando si maneggiano reagenti di laboratorio. (CLSI, GP17-A2).
2. Evitare l'inalazione o il contatto con pelle e occhi. In caso di contatto accidentale, lavare occhi e pelle con acqua e consultare un medico. Questo reagente non è compatibile con acidi forti.
3. Il reagente contiene lo 0,1% di azoturo di sodio, che potrebbe reagire con le tubature in rame e piombo formando accumuli altamente esplosivi di azidi metallici. Per informazioni su rischi, pericoli e sicurezza fare riferimento alle schede di sicurezza (SDS).
4. Come per qualunque altra procedura di test diagnostico, i risultati devono essere interpretati alla luce dei risultati prodotti da altri test e dello stato clinico del paziente.
5. Non utilizzare cuvette lavate.

ISTRUZIONI PER LA MANIPOLAZIONE, LA CONSERVAZIONE E LA STABILITÀ DEL REAGENTE

Il reagente viene fornito pronto all'uso. Il reagente in confezione chiusa si mantiene stabile fino alla data di scadenza presente sull'etichetta se conservato ad una temperatura di 2 - 8° C e protetto dall'esposizione alla luce. Il reagente rimane stabile on-board nel vano reagenti refrigerato nell'analizzatore EasyRA per il numero di giorni programmati sul chip RFID del flacone del reagente. Non usare il reagente qualora questo si presenti torbido od opaco o nel caso in cui non si riescano a recuperare i valori noti di controllo del siero.

PRELIEVO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI/STABILITÀ

È necessario usare siero pulito non emolizzato. Centrifugare ed eliminare il siero o il plasma appena possibile dopo la raccolta. L' α -amilasi serica è stabile per 7 giorni ad una temperatura di 18 - 25° C e per diversi mesi a 2 - 8° C⁵. Per il prelievo del plasma è possibile utilizzare provette rivestite di litio eparina.

PROCEDURA

Materiale fornito

Flacone di reagente per amilasi Medica, REF 10217

Ulteriore materiale necessario

Medica EasyQC Chimica/Elettroliti – Livello A, REF 10793

Medica EasyQC Chimica/Elettroliti – Livello B, REF 10794

Flacone per analisi colorimetrica di precisione Medica, REF 10764

Flacone di detergente Medica – Chimica e ISE, REF 10660, *oppure*

Flacone di detergente – Chimica, REF 10661

Istruzioni per l'uso

Il reagente viene fornito pronto all'uso. Rimuovere il tappo e collocare il reagente nel piatto reagenti dell'analizzatore EasyRA situato nell'area reagenti. La stabilità on-board (30 giorni massimo) è programmata sul chip RFID del flacone del reagente.

Nota: verificare che non sia presente schiuma all'interno del collo del flacone dopo aver rimosso il tappo e averlo collocato sull'analizzatore EasyRA. Qualora fosse presente schiuma, rimuoverla con un tampone o una pipetta monouso prima di eseguire il test.

Calibrazione

Non applicabile.

Controllo qualità

Si consiglia di eseguire due livelli di controllo del siero umano (normale e anomalo) con l'analisi una volta al giorno, quando si eseguono test sui pazienti e ogni qual volta il lotto di reagenti cambia. Il mancato raggiungimento dell'intervallo corretto di valori nel test del materiale di controllo può essere indice di deterioramento del reagente, malfunzionamento dello strumento o errori procedurali. Quando viene utilizzato il materiale di controllo qualità, il laboratorio deve attenersi alla normativa locale, nazionale e federale in materia di controllo di qualità.

Risultati

Dopo aver completato l'analisi, l'analizzatore EasyRA calcola la concentrazione di α -amilasi dal cambiamento di assorbanza al minuto, dal volume del campione, dal volume di reazione totale, dalla lunghezza di 0,6 cm del cammino ottico e dalla assorbidità molare di 12,9.

$$\text{AMY (U/L)} = (\Delta A/\text{min}) \times \frac{(\text{volume totale } (\mu\text{l}) \times 1000)}{(\text{assorbidità molare} \times \text{cammino ottico (cm)} \times \text{volume campione } (\mu\text{l}))}$$

Valori Attesi⁶

L'intervallo di riferimento per l' α -amilasi serica e plasmatica è il seguente:

Intervallo normale: da 25 a 94 U/L (37° C)

Tali valori rappresentano delle linee guida. Si consiglia a ciascun laboratorio di stabilire il proprio intervallo di valori attesi, in quanto esistono differenze tra strumenti, laboratori e popolazioni locali.

Limiti procedurali (ad es., se il campione è al di sopra dell'intervallo di misura)

Usare esclusivamente campioni di siero non emolizzato.

Se il cambiamento di assorbanza al minuto ($\Delta A/\text{min}$) è superiore a 0,281, corrispondente all'incirca a 1.200 U/L, i risultati vengono contrassegnati con "SD" (deplezione substrato). Se l'icona di "Riesecuzione" viene selezionata, è possibile che il campione venga ritestato utilizzando la metà (1/2) del volume del campione. I risultati del test rieseguito vengono calcolati tenendo conto dell'uso di volumi inferiori del campione. In tal modo l'intervallo accettabile del test di α -amilasi viene esteso a 2.400 U/L.

CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE⁷

Intervallo accettabile

L'intervallo accettabile è compreso tra 2 e 1.200 U/L. L'intervallo esteso è compreso tra 2 e 2.400 U/L quando viene usata la metà del campione (fattore di diluizione 1:1).

Imprecisione/Correlazione (CLSI, EP9-A2)

La tabella seguente elenca i dati ottenuti in un confronto del reagente per α -amilasi Medica (y) su un analizzatore EasyRA (y) alla prestazione di un reagente per α -amilasi simile (x) sull'analizzatore Roche COBAS MIRA*. I dati di seguito presentati illustrano le singole determinazioni ottenute sull'analizzatore EasyRA a fronte della media di due valori ripetuti ottenuti sull'analizzatore COBAS MIRA.

Numero di campioni	87	Intervallo dei campioni	da 2 a 1.150 U/L
Pendenza	1,0433	Intercetta y	5,5881
Coefficiente di correlaz.	0,9981	Equazione di regressione:	$Y = 1,0433 \cdot X + 5,5881$

La tabella seguente elenca i dati ottenuti in un confronto di campioni abbinati di siero (x) e di plasma trattato con litio-eparina (y) utilizzando il reagente Medica per amilasi sull'analizzatore EasyRA. I dati di seguito presentati illustrano le singole determinazioni ottenute sull'analizzatore EasyRA a fronte della media di due valori ripetuti relativi al siero.

Numero di campioni	78	Intervallo di campioni	da 4 a 1.061 U/L
Pendenza	1,0247	Intercetta y	-5,1770
Coefficiente di correlaz.	0,9985	Equazione di regressione	$Y = 1,0247 \cdot X - 5,1770$

*Cobas Mira è un marchio registrato di Roche Diagnostics, INC., Indianapolis, IN.

Imprecisione (CLSI, EP5-A2)

Le misurazioni duplicate di ciascuno dei tre livelli di materiale di controllo qualità sono state analizzate due volte al giorno per 20 giorni. Da questi dati sono state determinate sia la precisione intra-serie che quella totale.

Imprecisione intra-serie:

Livello di controllo qualità U/L	Deviazione standard intra-serie U/L	CV intra-serie %
296	1,9	0,6
85	0,7	0,8
45	0,8	1,8

Imprecisione totale:

Livello di controllo qualità U/L	Deviazione standard imprecisione totale U/L	CV imprecisione totale %
296	2,9	1,0
85	0,9	1,1
45	0,9	1,9

Linearità (CLSI, EP6-A)

Lineare da 2 a 1200 U/L, basata sulla regressione lineare $Y = 1,0007 \cdot X + 1,2297$.

Limite di vuoto:	0,78 U/L	(CLSI, EP17-A)
Limite di rilevamento:	1,03 U/L	(CLSI, EP17-A)

Sostanze interferenti (CLSI, EP7-A)

Le interferenze inferiori al 10% sono state classificate come "non significative".

Interferenza negativa clinicamente significativa è stata riscontrata con livelli di emoglobina superiori a 125 mg/dL.

In livelli fino a 25 mg/dL di bilirubina non sono state riscontrate interferenze significative.

A livelli fino a 1.350 mg/dL di trigliceridi non sono state riscontrate interferenze significative (usando Intralipid*).

*Intralipid è un marchio registrato di Pharmacia AB, Clayton, NC.

Young fornisce un elenco di medicinali e altre sostanze che interferiscono con le analisi chimiche cliniche^{8,9}.

RIFERIMENTI

- 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 Dati in archivio presso 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.

Parametri dell'analisi EasyRA (AMY)

Lunghezza d'onda (nm)	405
Tipo di reazione	Enzima (0)
Direzione di reazione	Aumento
Bianco reagente	No
Bianco campione	No
Primo interv. max. camb. assorb.	0,11
Tempo di reazione	4 min
Intervallo di calibrazione (massimo)	N/D

Siero/Plasma

Volume del campione ((l)	5,0
Volume del diluente ((l)	0
Volume del reagente ((l)	160
Stabilità on-board del reagente	30 giorni
Posizioni decimali (valori predefiniti)	0
Unità (valori predefiniti)	U/L
Fattore di diluizione	1:1 (per estenderel'intervallo di misurazione)
Linearità	da 2 a 1.200 U/L
Assorbività molare	12,9



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



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