

Infinity™

Réactif Liquide Stable de L'Amylase

CARACTÉRISTIQUES DU PRODUIT

Stabilité	: Jusqu'à péremption à 2-8°C
Limites de linéarité	: 10 - 2000 U/L (0,167 - 33,4 µkat/L)
Nature de l'échantillon	: Sérum ou Urine
Méthode	: Cinétique
Préparation du réactif	: Fourni prêt à l'emploi.

IVD

UTILISATION PRÉVUE

Ce réactif est destiné uniquement au diagnostic in vitro, pour la quantification d'une amylase (1,4- α -D-glucan glucanohydrolase EC3.2.1.1) dans le sérum ou l'urine humains sur des systèmes manuels ou automatiques.

INTERET CLINIQUE^{1,2,3}

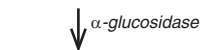
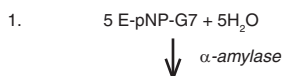
α -Amylase provient principalement des glandes salivaires et du pancréas exocrine. α -Amylase catalyse l'hydrolyse des liaisons glucosiques α -1 \rightarrow 4 de l'amidon et d'autres polysaccharides associés pour produire du maltose et d'autres oligosaccharides. L'enzyme est une molécule relativement petite rapidement éliminée par les reins et rejetée dans l'urine.

α -Amylase se mesure le plus souvent lors du diagnostic d'une pancréatite aiguë lorsque les niveaux des sérums s'élèvent fortement. Dans la pancréatite aiguë, α -amylase augmente environ 4 heures après le début des douleurs, atteint un pic en 24 heures et reste élevée pendant 3 à 7 jours.

L'hyperamylasémie est également associée à d'autres troubles abdominaux aigus, maladie du tractus biliaire, acétocétose diabétique, dysfonctionnement glomérulaire grave, troubles des glandes salivaires, grossesse extra-utérine avec rupture et macroamylasémie.

PRINCIPE DE LA METHODE

Plusieurs procédures de dosage d'une activité de l' α -amylase dans le sérum existent. Les méthodes amyloclastiques mesurent la disparition du substrat et comprennent la méthode iode-amidon. Les méthodes saccharogéniques mesurent la production de sucres tels que le maltose et le glucose. Ces deux méthodes manquent de linéarité, de sensibilité et de précision si elles sont comparées aux méthodes chromogènes qui teintent un produit coloré mesurable par spectrophotométrie.² Le réactif de l'amylase stable liquide Infinity utilise l'éthylidène-pNP-G7 (E-pNP-G7) comme substrat. L'utilisation de l'éthylidène évite la division du substrat par les exoenzymes, donc, en l'absence de α -amylase, aucun changement de couleur n'est observé. Le substrat est également appelé communément EPS. Une fois le substrat clivé par une α -amylase, les plus petits fragments produits peuvent agir avec un α -glucosidase, qui provoque la libération ultime du chromophore.



Où : G = Glucose
pNP = p-nitrophénol

Le taux de formation de pNP est proportionnel à l'activité de l' α -amylase présente dans l'échantillon, il se mesure par le taux d'accroissement de l'absorbance à 405 nm (405 - 420 nm).

COMPOSITION DU RÉACTIF

Ingrédients actifs	Concentration
E-pNP-G7	1,1 mmol/L
α -Glucosidase (microbien)	> 3500 U/L
NaCl	51 mmol/L
Tampon	50 mmol/L
pH 7,0 \pm 0,1 at 20°C.	

SYMBOLES DE L'ÉTIQUETAGE DU PRODUIT

EC REP	Représentant Autorisé		Limites de température
IVD	Utilisation en diagnostique in vitro		Utiliser jusque
LOT	Numéro de lot		ATTENTION: Consulter les instructions d'utilisation
REF	Référence catalogue		Fabriqué par
	Consulter les instructions d'utilisation		

PRECAUTIONS: Ne pas avaler. Eviter tout contact avec les yeux. En cas de débordements ou de coulures rincer les surfaces affectées à l'eau. Le réactif contient de l'Azide de sodium et est susceptible de réagir avec le plomb et le cuivre résiduels. Afin d'éliminer toutes traces de réactif, rincer avec de grandes quantités d'eau. La fiche de sécurité sur le Réactif de L'Amylase Stable Liquide Infinity contient des informations plus détaillées.

PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le réactif est fourni prêt à l'emploi.

STABILITÉ ET CONSERVATION

Avant utilisation :

Lorsqu'il est conservé réfrigéré à 2-8°C, le réactif est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon ou du coffret.

Une fois le réactif ouvert :

Une fois stocké couvert à 2 - 8°C, le réactif est stable jusqu'à l'échéance.

Indications de la détérioration du réactif :

- Turbidité,
- Absorbance du réactif >1,0 AU à 405 nm (1 cm) ; et/ou
- Impossibilité de retrouver les valeurs de contrôle dans la plage affectée.

PRELEVEMENT ET MANIPULATION DES ECHANTILLONS

Sérum : Utiliser un sérum non hémolysé.⁴

Urine : Les collectes aléatoires ou minutées sont des spécimens valides.⁴

Conservation : α -Amylase est exceptionnellement stable et les échantillons de sérum peuvent être stockés au moins 7 jours à température ambiante et au moins 1 mois entre 4°C et -20°C.² Les échantillons d'urine sont stables 7 jours à 4 °C. Il est prévu un délai de transport de l'échantillon d'urine au laboratoire, l'utilisation d'un préservatif chimique tel que le Merthiolate (0,24 mmol/L) est recommandée.⁵

MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Un analyseur de biochimie capable de maintenir une température constante (37°C) et de mesurer une absorbance à 405 nm (405 - 420nm).
- Consommables nécessaires au fonctionnement de l'analyseur, par ex.: cupules échantillon.
- Sérum de contrôle normal et pathologique.

PROCÉDURE DE DOSAGE

Les paramètres de système suivants sont recommandés. Des applications d'instruments individuelles sont disponibles sur demande auprès du groupe de support technique.

PARAMETRAGE DU SYSTÈME

Température	37°C
Longueur d'onde principale	405 nm (405-420nm)
Longueur d'onde annexe	480-600nm
Type de dosage	Taux/Cinétique
Sens de la réaction	Augmentation
Échantillon: Rapport de volume	1:40
eg: Volume échantillon	7 µL
Volume réactif	280 µL
Délai/Latence	60 secondes
Temps de lecture	2 minutes
Limites du réactif blanc (405 nm, optique 1cm)	Basse 0,0 AU
Haute	1,0 AU
Linéarité	10 - 2000 U/L
(voir la section linéarité)	(0,167 - 33,4 µkat/L)
Sensibilité Analytique (405nm, optique 1cm)	0,195 Δ mA/min par U/L
	(11,7 Δ mA/min par µkat/L)

CALCULS

Les résultats sont calculés directement par l'analyseur selon la formule suivante :

Activité en U/L = Δ Abs/min x Facteur

$$\text{Facteur} = \frac{\text{TV} \times 1000 \times 1,27}{\text{SV} \times \text{E} \times \text{P}}$$

Où :

TV	=	Volume total de la réaction en mL
1,27	=	Facteur de conversion de la méthode (voir la note 2).
SV	=	Volume de l'échantillon en mL.
E	=	Coefficient d'extinction millimolaire de pNP à 405 nm
	=	10,13 (voir la note 1).
P	=	Longueur de chemin de la cuvette en cm.

Exemple :

Δ Abs/min	=	0,02
Facteur	=	5140
Amylase	=	0,02 x 5140 = 103 U/L

REMARQUES

- Le coefficient d'extinction millimolaire du pNP dans ce système de réactif à 410 nm = 9,80, 415 nm = 9,17 et à 420 nm = 8,30.
- Avec ce facteur, les valeurs obtenues avec le réactif de l'amylase Infinity à 405 nm/37°C sont comparables à celles obtenues avec la précédente méthode disponible du PNP7.
- Les volumes de réactif et d'échantillon peut être modifié en proportion pour s'adapter aux prescriptions de divers spectrophotomètres.
- Si l'absorbance est modifiée de plus de 0,39/min, répéter le dosage avec un échantillon plus petit ou diluer avec une solution saline. Se rappeler de régler le facteur pour un volume d'échantillon inférieur ou multiplier le résultat final par le facteur de dilution.
- La validité des résultats dépend de la précision de l'étalonnage de l'appareil, de la synchronisation et du contrôle de la température.
- Conversion d'unités : U/L x 16,67 x 10⁻³ = μ kat/L.

CALIBRAGE

Non requis. Le taux de réaction est converti en U/L d'activité par un facteur de calcul. Voir la section Calcul du présent insert d'emballage.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Pour garantir un contrôle adéquat de la qualité, des contrôles normaux et exceptionnels doivent être pratiqués sur des échantillons inconnus :

- Au moins une fois par jour ou conformément aux instructions du laboratoire.
- Lorsqu'un nouveau flacon de réactif est utilisé.
- Après une maintenance préventive ou le remplacement d'un des composants fondamentaux de l'analyseur.

Si les résultats de contrôle ne sortent pas dans leur fourchette de tolérance, procéder alors aux actions suivantes :

- Répéter les mêmes contrôles.
- Si les résultats sont encore , en dehors de leur fourchette de tolérance préparer un sérum de contrôle frais et recommencer le test.
- Si les résultats restent hors des limites sur un matériau de contrôle frais, répéter le test avec un réactif neuf.
- Si les résultats sont toujours hors limites, contacter les services techniques ou votre distributeur local.

LIMITES DE LA PROCEDURE

- Des études menées pour déterminer le niveau d'interférence entre l'hémoglobine, la bilirubine et la lipémie, ont donné les résultats suivants :

Hémoglobine : Aucune interférence de l'hémoglobine jusqu'à 522 mg/dL.

Free bilirubin : No interference from free bilirubin up to a level of 265 μ mol/L (15,5 mg/dL).

Bilirubine conjuguée : aucune interférence avec la bilirubine conjuguée jusqu'à 286 μ mol/L (16,7 mg/dL)

Lipémie : Aucune interférence avec la lipémie, mesurée à une absorbance à 630 nm, jusqu'à 1,045 AU.

- Young DS[®] a publié une liste complète de médicaments et de substances pouvant interférer avec ce dosage.
- Pour éviter toute possibilité de contamination avec l' α -amylase, assurez-vous que le réactif n'entre pas en contact avec la salive ou la peau.

VALEURS ATTENDUES

Sérum:*	At 37°C	35 - 140 U/L (0,585 - 2,34 μ kat/L)
	At 30°C	27 - 108 U/L (0,451 - 1,80 μ kat/L)

Urine: 1 - 17 U/heure (0,017 - 0,284 μ kat/heure)[†]

*Les valeurs indiquées proviennent d'une étude de 59 échantillons normaux et ne doit servir qu'à titre indicatif. Les valeurs à 30°C n'ont été calculées qu'à titre indicatif, avec un facteur de conversion de température de 0,77. Nous ne recommandons cependant pas l'utilisation habituelle des facteurs de conversion de température. Il est recommandé à chaque laboratoire de vérifier sa plage ou de dériver un intervalle de référence pour la population qu'il sert.[§]

MESURES

Les données suivantes ont été obtenues avec le Réactif de L'Amylase Liquide Stable Infinity sur un analyseur de biochimie automatisé bien entretenu.

IMPRÉCISION

L'imprécision a été évaluée au cours d'une période de 20 jours et en utilisant deux niveaux de contrôle du commerce et la procédure NCCLS EP5-T suivante.[§]

	Niveau I	Niveau II
Nombre de mesures	80	80
Moyenne (U/L / μ kat/L)	42 / 0,701	341 / 5,69
Dans la session: SD (U/L / μ kat/L)	2,2 / 0,037	3,2 / 0,053
CV (%)	5,3	0,9
Total: SD (U/L / μ kat/L)	3,4 / 0,057	8,9 / 0,149
CV (%)	8,1	2,6

COMPARAISON DE METHODES

Des études comparatives ont été menées avec un réactif similaire vendu dans le commerce et utilisé comme référence. Les échantillons de sérum et d'urine ont été dosés en parallèle et les résultats comparés par la méthode des moindres carrés. Ces résultats sont :

Sérum :

Nombre d'échantillons en double	60
Plage de mesures des échantillons	24 - 465 U/L / (0,401 - 7,77 μ kat/L)
Moyenne des mesures (référence)	67 U/L / (1,12 μ kat/L)
Moyenne des mesures (l'amylase Infinity)	69 U/L / (1,15 μ kat/L)
Pente	0,9425
Coordonnées à l'origine	1,8 U/L (0,030 μ kat/L)
Coefficient de Corrélation	0,9970

Urine:

Nombre d'échantillons en double	41
Plage de mesures des échantillons	5 - 595 U/L / (0,084 - 9,94 μ kat/L)
Pente	1,187
Coordonnées à l'origine	-7,6 U/L (0,127 μ kat/L)
Coefficient de Corrélation	0,9953

LINÉARITÉ

Utilisé selon les prescriptions, le dosage est linéaire entre 10 - 2000 U/L (0,167 - 33,4 μ kat/L). La linéarité sur les appareils automatiques dépendra du rapport volume de l'échantillon sur volume de réactif utilisé et du temps des mesures. L'application spécifique à l'appareil doit être consultée.

SENSIBILITÉ ANALYTIQUE

Effectué selon les recommandations, ce dosage a une sensibilité de 0,195 Δ mA/min par U/L (11,7 Δ mA/min par μ kat/L).

RÉFÉRENCES

- JF Zilva and PR Pannall. "Plasma Enzymes in Diagnosis" in Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment. Lloyd-Luke London 1979: Chapter XV: 341-2
- Foo YA and Brosalki SB. Ann Clin. Biochem 1986; 23:624-37
- Bais R. Am. Jnl of Clin. Path 1982; 78: 184-8
- Clinical Chemistry Infobase: A Scientific & Management Cyclopedic. Pesce-Kaplan Publishers 1996; 2619-2620.
- Shepherd MDS and Mazzachi RD. The Clin. Biochem 1983; 4: 61-7
- Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests Third Edition 1990; 3: 34-6.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Burtis CA and Ashwood ER (Eds). Second Edition, WB Saunders Company, 1994;2178.
- Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. NCCLS, 1984, NCCLS Publication EP5-T.



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



REF

Information Commandes

No de Catalogue	Configuration
TR25421	2 x 125 mL
1174-200H	4 x 50 mL (Hitachi)
TL25401	6 x 20 mL (iLab 600)
TR25456	2 x 28 mL
TY25401	4 x 53 mL

© 2008 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. Hitachi is a registered trademark of Roche Diagnostics, Indianapolis, IN 46250. iLab 600 is a registered trademark of Instrumentation Laboratory Company, Lexington, MA 02421. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.