

# Infinity™

## Reagente Stabile Liquido di Amilasi

### SOMMARIO DEL PRODOTTO

Stabilità	:	Fino alla scadenza a 2-8°C
Intervallo lineare	:	10 - 2000 U/L (0,167 - 33,4 µkat/L)
Tipo di campione	:	Siero o Urina
Metodo	:	Cinetica
Preparazione reagente	:	Fornito pronto per l'uso.

IVD

### SIMBOLI DI ETICHETTATURA PRODOTTO

<b>EC REP</b>	Rappresentante autorizzato		Limite di temperatura
<b>IVD</b>	Per uso diagnostico in vitro		Usare entro/Data di scadenza
<b>LOT</b>	Codice/Numero lotto		AVVERTENZA. Consultare le istruzioni d'uso.
<b>REF</b>	Numero catalogo		Prodotto da
	Consultare le istruzioni d'uso		

#### USO PREVISTO

Questo reagente consente esclusivamente l'utilizzo diagnostico in vitro, per la determinazione quantitativa di  $\alpha$ -amilasi (1,4- $\alpha$ -D-glucan glucoamidoilasi EC3.2.1.1) nel siero umano o nell'urina mediante sistemi manuali o automatici.

#### IMPORTANZA CLINICA<sup>1,2,3</sup>

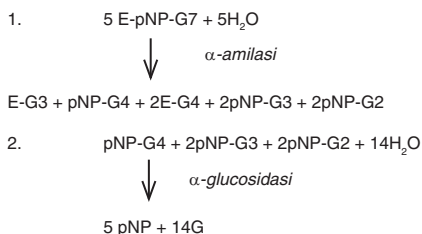
L' $\alpha$ -amilasi viene derivata principalmente dalle ghiandole salivari e dal pancreas esocrino. L' $\alpha$ -amilasi catalizza l'idrolisi dei legami  $\alpha$ -1 $\rightarrow$ 4 glucosidici di amido e altri polisaccaridi associati per produrre maltosio e altri oligosaccaridi. L'enzima è una molecola relativamente piccola rapidamente filtrata dai reni ed escreta nell'urina. Nella maggior parte dei casi l' $\alpha$ -amilasi viene misurata nella diagnosi di pancreatite acuta quando i livelli di siero possono essere notevolmente elevati. Nella pancreatite acuta l' $\alpha$ -amilasi inizia ad aumentare a circa 4 ore dalla comparsa del dolore, raggiungendo il picco dopo 24 ore e restando alterata per 3-7 giorni. L'iperamilasemia è associata anche ad altri disturbi addominali acuti, malattie del tratto biliare, chetoacidosi diabetica, grave disfunzione glomerulare, malattie delle ghiandole salivari, rottura di gravidanza ectopica e macroamilasemia.

#### METODOLOGIA

Sono disponibili diverse procedure per l'analisi dell'attività dell' $\alpha$ -amilasi nel siero. I metodi amiloclastici misurano la scomparsa del substrato e comprendono il metodo amido-iodio. I metodi saccarogenici misurano la produzione di zuccheri come maltosio e glucosio. Entrambi presentano carenze di linearità, sensibilità e precisione rispetto ai metodi cromogenici che producono un prodotto colorato che può essere misurato spettrofotometricamente.<sup>2</sup>

Il reagente Amilasi Infinity utilizza come substrato Etilidene-pNP-G7 (E-pNP-G7). L'utilizzo di etilidene previene la disgregazione del substrato da parte degli enzimi, quindi in assenza di  $\alpha$ -amilasi non viene osservata alcuna variazione di colore. Il substrato è comunemente chiamato anche EPS.

Una volta disgregato il substrato mediante l' $\alpha$ -amilasi, con l' $\alpha$ -glucosidasi è possibile agire sui piccoli frammenti prodotti, provocando il rilascio massimo di cromoforo. La serie di reazioni interessata dal sistema di analisi è la seguente:



Dove: G = Glucosio  
pNP = p-nitrofenolo

La velocità di formazione di pNP è proporzionale all'attività dell' $\alpha$ -amilasi presente nel campione ed è misurata mediante la velocità di crescita nell'assorbanza a 405 nm (405-420nm).

#### COMPOSIZIONE DEL REAGENTE

Ingredienti attivi	Concentrazione
E-pNP-G7	1,1 mmol/L
$\alpha$ -Glucosidase (microbial)	> 3500 U/L
NaCl	51 mmol/L
Buffer	50 mmol/L
pH 7,0 $\pm$ 0,1 a 20°C.	

**AVVERTENZA:** Non ingerire. Evitare il contatto con gli occhi e con la pelle. In caso di versamento, lavare l'area interessata con abbondante acqua. Il reagente contiene sodio azide che a contatto con impianti idraulici in rame o piombo può causare reazioni. Smaltire con abbondante acqua. Per ulteriori informazioni, consultare la documentazione di sicurezza del Reagente Stabile Liquido di Amilasi Infinity.

#### PREPARAZIONE DEL REAGENTE

Il reagente è fornito pronto per l'uso.

#### STABILITÀ E CONSERVAZIONE

##### Prima dell'uso:

Se conservato in frigorifero a una temperatura di 2-8°C, il reagente è stabile fino alla data di scadenza indicata sulla bottiglia e sull'etichetta della scatola del kit.

##### Dopo l'apertura del reagente:

Se conservato chiuso a una temperatura di 2-8°C, il reagente è stabile fino alla scadenza.

##### Indicazioni del deterioramento del reagente:

- Torbidità,
- Assorbanza del reagente >1,0 AU a 405nm (1 cm); e/o
- Mancato recupero dei valori di controllo nell'intervallo assegnato.

#### RACCOLTA E MANIPOLAZIONE CAMPIONI

**Siero:** Utilizzare siero non emolizzato.<sup>4</sup>

**Urina:** Le raccolte casuali o temporizzate costituiscono campioni validi.<sup>4</sup>

**Conservazione:** L' $\alpha$ -Amilasi è eccezionalmente stabile e i campioni di siero possono essere conservati per almeno 7 giorni a temperatura ambiente e per almeno 1 mese a 4°C o -20°C<sup>2</sup>. I campioni di urina sono stabili per 7 giorni se conservati a 4°C. Se è previsto un ritardo nel trasporto dei campioni di urina al laboratorio, si consiglia di utilizzare un conservante chimico come Mertiolato (0,24 mmol/L).<sup>5</sup>

#### STRUMENTAZIONE AGGIUNTIVA NECESSARIA NON FORNITA

- Un analizzatore chimico clinico in grado di mantenere la temperatura costante (37°C) e misurare l'assorbanza a 405nm (405-420nm).
- Materiali di consumo specifici per l'analizzatore, ad es.: contenitore campioni
- Materiale di controllo analizzato normale e anormale.

#### PROCEDURA DI ANALISI

Si consiglia di attenersi ai seguenti parametri di sistema. Singole applicazioni strumentali sono fornite su richiesta dal Gruppo di assistenza tecnica.

#### PARAMETRI DI SISTEMA

Temperatura	37°C
Lunghezza d'onda primaria	405 nm (405-420nm)
Lunghezza d'onda secondaria	480-600nm
Tipo di analisi	Velocità/Cinetica
Direzione	Aumento
Campione: Rapporto reagente	1:40
ad es.: Vol. campione	7 µL
Vol. reagente	280 µL
Ritardo	60 Secondi
Tempo lettura	2 minuti
Limiti blank del reagente	Basso 0,0 AU
(405nm, 1cm lightpath)	Alto 1,0 AU
Linearità	10 - 2000 U/L
(fare riferimento alla sezione Linearità)	(0,167 - 33,4 µkat/L)
Sensibilità Analitica	0,195 $\Delta$ mA/min per U/L
(405nm, 1cm percorso della luce)	(11,7 $\Delta$ mA/min per µkat/L)

#### CALCOLO

I risultati vengono solitamente calcolati automaticamente dallo strumento come segue:

**Attività in U/L =  $\Delta$ Abs/min x Fattore**

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

**Dove:**

TV = Volume di reazione totale in mL  
 1,27 = Fattore di conversione metodo (Vedere nota 2).  
 SV = Volume campione in mL  
 E = coefficiente di estinzione millimolare di pNP a 405nm  
 = 10,13 (Vedere nota 1).  
 P = Lunghezza di percorso della cuvetta in cm.

**Esempio:**

$\Delta$ Abs/min = 0,02  
 Fattore = 5140  
 Amilasi = 0,02 x 5140 = 103 U/L

**NOTE**

- Il coefficiente di estinzione millimolare per pNP in questo sistema di reagente a 410 nm = 9,8, 415 nm = 9,17 e a 420 nm = 8,30.
- Con questo fattore i valori ottenuti con il reagente Amilasi Infinity a 405 nm/37° C sono paragonabili a quelli ottenuti con il metodo PNP7 bloccato precedentemente disponibile
- I volumi di reagente e campione possono essere proporzionalmente variati per adattarsi ai requisiti di spettrofotometri diversi.
- Se la variazione dell'assorbanza è maggiore di 0,39/min, ripetere l'analisi con quantità inferiore di campione o diluire con soluzione fisiologica. Avere cura di regolare il fattore per il volume campione più piccolo o di moltiplicare il risultato finale per il fattore di diluizione.
- La validità dei risultati dipenderà da una accurata calibratura degli strumenti, la distribuzione dei tempi e il controllo della temperatura.
- Conversione unità: U/L x 16,67 x 10<sup>-3</sup> =  $\mu$ kat/L.

**CALIBRAZIONE**

Non necessaria. La velocità di reazione è convertita a U/L di attività mediante un fattore di calcolo. Fare riferimento alla sezione di calcolo di questo inserto.

**CONTROLLO QUALITÀ**

Per garantire un controllo qualità adeguato i controlli normali e anormali devono essere effettuati come campioni sconosciuti:-

- Almeno una volta al giorno oppure secondo quanto stabilito dal laboratorio.
- Quando si utilizza una nuova bottiglia di reagente.
- In seguito a manutenzione preventiva o sostituzione di un componente critico.

I risultati del controllo non rientranti nei limiti superiore o inferiore degli intervalli stabiliti indicano che il campione potrebbe essere fuori controllo.

In tali situazioni si consiglia di effettuare le seguenti azioni correttive:

- Ripetere gli stessi controlli.
- Se i risultati dei controlli ripetuti non rientrano nei limiti, preparare del siero di controllo nuovo e ripetere la prova.
- Se i risultati del materiale appena controllato continuano a non rientrare nei limiti, ripetere il test con reagente appena preparato.
- Se i risultati risultano ancora fuori controllo, contattare l'Assistenza tecnica o il distributore locale.

**LIMITAZIONI**

- Si riportano di seguito i risultati di studi condotti per determinare il livello di interferenza da emoglobina, bilirubina e lipemia:  
**Emoglobina:** Nessuna interferenza da emoglobina fino a 522 mg/dL.  
**Bilirubina libera:** Nessuna interferenza da bilirubina libera fino a 265  $\mu$ mol/L (15,5 mg/dL).  
**Bilirubina coniugata:** Nessuna interferenza da bilirubina coniugata fino a un livello di 286  $\mu$ mol/L (16,7 mg/dL).  
**Lipemia:** Nessuna interferenza da lipemia, misurata con assorbanza a 630nm, fino a 1,045 UA.
- Young DS<sup>®</sup> ha pubblicato un elenco completo dei farmaci e sostanze in grado di interferire con questo saggio.
- Per evitare la possibilità di contaminazione con l' $\alpha$ -amilasi, accertarsi che il reagente non entri in contatto con saliva e pelle.

**VALORI PREVISTI**

Siero:\* A 37°C 35 - 140 U/L (0,585 - 2,34  $\mu$ kat/L)  
 A 30°C 27 - 108 U/L (0,451 - 1,80  $\mu$ kat/L)

Urina: 1 - 17 U/ora (0,017 - 0,284  $\mu$ kat/ora)<sup>7</sup>

\*I valori indicati derivano da uno studio di 59 campioni normali e hanno scopo unicamente di guida. I valori 30°C sono stati calcolati a scopo unicamente di guida, utilizzando un fattore di conversione pari a 0,77. È comunque sconsigliato l'utilizzo frequente dei fattori di conversione di temperatura. Si consiglia ad ogni laboratorio di verificare questo intervallo o di procurare un intervallo di riferimento per la popolazione a cui si riferisce.<sup>8</sup>

**PRESTAZIONI**

I dati seguenti sono stati ottenuti utilizzando il Reagente Stabile Liquido Amilasi Infinity su un analizzatore chimico clinico automatico mantenuto in efficienza.

**IMPRECISIONE**

L'imprecisione è stata valutata su un periodo di 20 giorni utilizzando due livelli di controllo commerciale e seguendo la procedura NCCLS EP5-T.<sup>9</sup>

	LIVELLO I	LIVELLO II
Numero punti di rilevamento	80	80
Media (U/L / $\mu$ kat/L)	42 / 0,701	341 / 5,69
Nell'esecuzione: SD (U/L / $\mu$ kat/L)	2,2 / 0,037	3,2 / 0,053
CV (%)	5,3	0,9
Totale: SD (U/L / $\mu$ kat/L)	3,4 / 0,057	8,9 / 0,149
CV (%)	8,1	2,6

**CONFRONTO DI METODO**

Sono stati condotti studi comparativi utilizzando come riferimento un reagente simile disponibile in commercio. I campioni di siero e urina sono stati analizzati in parallelo e i risultati sono stati confrontati per regressione al minimo quadrato, ottenendo le seguenti statistiche.

**Siero:**

Numero di coppie di campioni 60  
 Intervallo risultati campione 24 - 465 U/L / (0,401 - 7,77  $\mu$ kat/L)  
 Media risultati metodo di rif. 67 U/L / (1,12  $\mu$ kat/L)  
 Media risultati di Amilasi Infinity 69 U/L / (1,15  $\mu$ kat/L)  
 Pendenza 0,9425  
 Intercetta 1,8 U/L (0,030  $\mu$ kat/L)  
 Coefficiente di correlazione 0,9970

**Urina:**

Numero di coppie di campioni 41  
 Intervallo risultati campione 5 - 595 U/L / (0,084 - 9,94  $\mu$ kat/L)  
 Pendenza 1,187  
 Intercetta -7,6 U/L (0,127  $\mu$ kat/L)  
 Coefficiente di correlazione 0,9953

**LINEARITÀ**

Quando condotto secondo le raccomandazioni, il saggio è lineare tra 10 - 2000 U/L (0,167 - 33,4  $\mu$ kat/L). La linearità sugli strumenti automatici dipenderà dal rapporto del volume campione con il volume del reagente utilizzato e la distribuzione nel tempo delle misurazioni. È necessario consultare l'applicazione specifica dello strumento.

**SENSIBILITÀ ANALITICA**

Quando condotto secondo le raccomandazioni, la sensibilità di questo saggio è di 0,195  $\Delta$ mA/min per U/L (11,7  $\Delta$ mA/min per  $\mu$ kat/L).

**RIFERIMENTI**

- 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 Cyclopedia. 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

**Dati per nuovi ordini**

N°. Catalogo.	Configurazione
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.