

# Reagente Amilasi

## E-pNP-G7 Bloccato Substrato

### SOMMARIO DEL PRODOTTO

Stabilità	:	3 mesi a 2 - 8°C
Intervallo lineare	:	10 - 2000 U/L
Tipo di campione	:	Siero o Urina
Metodo	:	Cinetico
Preparazione reagente	:	Aggiunta del volume di acqua distillata o deionizzata

### 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.

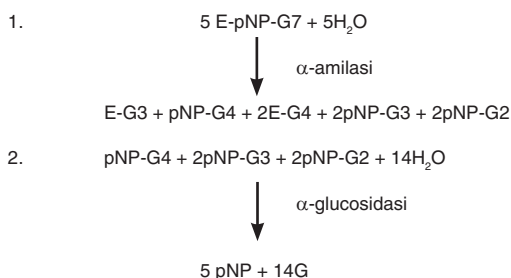
### METODOLOGIA

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 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 cromoformo.

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)	> 1500 U/L
NaCl	51 mmol/L
Buffer	50 mmol/L
pH 7,0 $\pm$ 0,1 a 20°C.	

### SIMBOLI DI ETICHETTATURA PRODOTTO

	Rappresentante autorizzato		Limite di temperatura
	Per uso diagnostico in vitro		Usare entro/Data di scadenza
	Codice/Numero lotto		AVVERTENZA. Consultare le istruzioni d'uso.
	Numero catalogo		Prodotto da
	Consultare le istruzioni d'uso		T - Tossico

**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 Amilasi I. **La confezione di questo prodotto contiene gomma naturale solida.** Manipolare eventuali fiale di vetro rotte con cautela, in quanto i bordi taglienti possono ferire l'utilizzatore.

R25 Tossico per ingestione.

R32 A contatto con acidi libera gas molto tossico.

S28 In caso di contatto con lapelle lavarsi immediatamente ed abbondantemente con sapone ed acqua.

### PREPARAZIONE DEL REAGENTE

Ricostituire il reagente con il volume d'acqua distillata o deionizzata indicato sull'etichetta della bottiglia. Non mouth la pipetta.

### STABILITA' 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.

Reagente ricostituito:

Se conservato chiuso a una temperatura di 2-8°C, il reagente è stabile per almeno 3 mesi.

### 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 Mertiolo (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.
- Acqua distillata o deionizzata per la preparazione del reagente e relativa strumentazione, ad es.: pipette.
- 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	30°/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	5 $\mu$ L
Vol. reagente	200 $\mu$ L
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)	
Sensibilità	0,195 $\Delta$ mA/min per U/L
(405nm, 1cm percorso della luce)	

## CALCOLI

I risultati vengono solitamente calcolati automaticamente dallo strumento come segue:

Attività in U/L =  $\Delta\text{Abs}/\text{min} \times \text{Fattore}$

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

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:

$\Delta\text{Abs}/\text{min} = 0,02$   
Fattore = 5140  
Amilasi =  $0,02 \times 5140 = 103 \text{ U/L}$

## 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 E-PNP-G7 a 405 nm / 37° C sono paragonabili a quelli ottenuti con il metodo PNP-G7 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  $16,67 \times 10^{-3} = \mu\text{kat/L}$ .

## 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 QUALITA'

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

- Almeno ogni otto ore.
- 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 522mg/dL.  
Bilirubina libera: Nessuna interferenza da bilirubina libera fino a 265  $\mu\text{mol/L}$  (15,5 mg/dL).  
Bilirubina coniugata: Nessuna interferenza da bilirubina coniugata fino a un livello di 286  $\mu\text{mol/L}$  (16,7mg/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 (0,58 - 2,3  $\mu\text{kat/L}$ )  
A 30°C 27 - 108 U/L (0,45 - 1,80  $\mu\text{kat/L}$ )

Urina: 1 - 17 U/ora(0,02 - 0,28  $\mu\text{kat/ora}$ )<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 Amilasi su un analizzatore chimico clinico automatico mantenuto in efficienza. Le prestazioni del prodotto devono essere comunque determinate dall'utente sulla base dell'analizzatore utilizzato.

## IMPRECISIONE

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

Nell'esecuzione:	LIVELLO I	LIVELLO II
Numero punti di rilevamento	40	40
Media (U/L)	43	379
SD (U/L)	1,7	4,5
CV (%)	3,9	1,2
Totale:	LIVELLO I	LIVELLO II
Numero punti di rilevamento	40	40
Media (U/L)	43	379
SD (U/L)	2,9	6,6
CV (%)	6,8	1,7

## PRECISIONE

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

Numero di coppie di campioni	39
Intervallo risultati campione	11 - 1396 U/L
Media risultati metodo di rif.	192 U/L
Media risultati di Amilasi	202 U/L
Pendenza	1,039
Intercetta	2,3
Coefficiente di correlazione	0,9958

## LINEARITA'

Quando condotto secondo le raccomandazioni, il saggio è lineare tra 10 and 2000 U/L (0,2-33  $\mu\text{kat/L}$ ). 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.

## SENSIBILITA'

Quando condotto secondo le raccomandazioni, la sensibilità di questo saggio è di 0,195  $\Delta\text{mA}/\text{min}$  per U/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 Cyclopeda. 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.

© 2008 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.



Fisher Diagnostics  
a division of Fisher Scientific Company, LLC  
a subsidiary 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
TR25110	20 x 10 mL
TR25115	20 x 20 mL
TR25103	10 x 50 mL