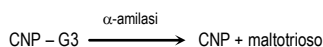




COD 11583 5 x 5 mL	COD 11550 6 x 25 mL
CONSERVARE A 2-8°C	
Reattivi per misurare la concentrazione di α -amilasi Solo per uso <i>in vitro</i> nel laboratorio clinico	

PRINCIPIO DEL METODO

La α -amilasi catalizza l'idrolisi del 2-cloro-4-nitrofenil-maltotrioside (CNP-G3) a 2-cloro-4-nitrofenolo (CNP). La concentrazione catalitica viene determinata a partire dalla velocità di formazione del 2-cloro-4-nitrofenolo, letta a 405 nm^{1,2,3}.

**CONTENUTO**

	COD 11583	COD 11550
A. Reattivo	5 x 5 mL	6 x 25 mL

COMPOSIZIONE

A. Reattivo. MES 50 mmol/L, cloruro di calcio 5 mmol/L, cloruro di sodio 300 mmol/L, tiocianato di sodio 450 mmol/L, CNP-G3 2,25 mmol/L, pH 6,1.

CONSERVAZIONE

Conservare a 2-8°C.

I Reattivi sono stabili sino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, purchè conservati ben chiusi e si eviti la contaminazione durante l'uso.

Indicazioni di deterioramento:

– Reattivo: Presenza di particelle, torbidità, assorbanza del bianco superiore a 0,500 a 405 nm (cuvetta da 1 cm).

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Applicare le normali precauzioni necessarie per maneggiare tutti i reagenti di laboratorio. Scheda dati di sicurezza disponibile per utenti professionisti su richiesta. Lo smaltimento di tutto il materiale di scarto deve essere effettuato in conformità alle linee guida locali. Eventuali incidenti gravi che potrebbero verificarsi in relazione al dispositivo devono essere segnalati a BioSystems S.A.

PREPARAZIONE DEI REATTIVI

Reattivo (A): Pronto all'uso.

MATERIALE AGGIUNTIVO

- Analizzatore, spettrofotometro o fotometro con cuvette termostabile a 37°C per letture a 405 nm
- Cuvette da 1,0 cm di cammino ottico

CAMPIONI

Siero, plasma o urine raccolti mediante procedimenti standard.

La α -amilasi nel siero o plasma è stabile 1 mese a 2-8°C. Deve essere utilizzata l'eparina come anticoagulante.

La α -amilasi nelle urine è stabile 1 mese a 2-8°C purchè il pH sia regolato approssimativamente a 7 per la conservazione.

PROCEDURA

1. Preriscaldare il Reattivo e lo strumento alla temperatura di reazione.
2. Pipettare in una cuvetta (Note 1, 2):

	Siero/Plasma	Urine
Reattivo (A)	1,0 mL	1,0 mL
Campione	20 μ L	10 μ L

3. Mescolare ed inserire la cuvetta nel fotometro. Avviare il cronometro.
4. Annotare l'assorbanza iniziale ed effettuare nuove letture ogni minuto per 3 minuti.
5. Calcolare l'incremento medio di assorbanza per minuto ($\Delta A/\text{min}$).

CALCOLI

La concentrazione di α -amilasi nel campione si calcola a partire dalla seguente formula generale:

$$\Delta A/\text{min} \times \frac{Vt \times 10^6}{c \times l \times Vs} = \text{U/L}$$

Il coefficiente di estinzione molare (ϵ) del CNP a 405 nm è 15.490 ed il cammino ottico (l) è 1 cm. Per campioni di siero e plasma, il volume totale di reazione (Vt) è 1,02 a 37°C mentras il volume di campione (Vs) è 0,02 a 37°C. Per campioni di urine, il volume totale di reazione (Vt) è 1,01 a 37°C ed il volume di campione (Vs) è 0,01 a 37°C. 1 U/L equivale a 0,0166 μ kat/L. Si deducono i seguenti fattori per calcolare la concentrazione catalitica:

		37°C
$\Delta A/\text{min}$	Siero, plasma	$\times 3292 = \text{U/L}$ $\times 54,9 = \mu\text{kat/L}$
	Urine	$\times 6520 = \text{U/L}$ $\times 108,7 = \mu\text{kat/L}$

VALORI DI RIFERIMENTO

Temperatura reazione	Siero, plasma		Urine	
	U/L	μ kat/L	U/L	μ kat/L
37°C ^{4,5}	22-80	0,37-1,33	< 321	< 5,35

Questi valori si danno unicamente a titolo orientativo; si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca i propri intervalli di riferimento.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Si consiglia l'impiego dei Sieri Controllo di Biochimica livello I (cod. 18005, cod. 18009 e cod. 18042) e livello II (cod. 18007, cod. 18010 e cod. 18043) e l'Urina Controllo per Biochimica (cod. 18054 e cod. 18066) per verificare le prestazioni del procedimento di misurazione.

Ogni laboratorio deve stabilire un proprio programma di controllo di qualità interno e procedimenti di correzione se i controlli non rientrano nelle tolleranze accettabili.

CARATTERISTICHE METROLOGICHE

- Limite di rilevazione: 1,8 U/L = 0,03 μ kat/L.
- Limite di linearità: 1317 U/L = 22 μ kat/L nel siero e 2600 U/L = 43,5 μ kat/L nelle urine. Qualora si ottengano valori superiori, diluire il campione 1/5 con acqua distillata e ripetere la determinazione.
- Ripetibilità (nella serie):

Concentrazione media	CV	n
64 U/L = 1,07 μ kat/L	1,8 %	20
338 U/L = 5,63 μ kat/L	0,5 %	20

- Riproducibilità (fra le serie):

Concentrazione media	CV	n
64 U/L = 1,07 μ kat/L	3,5 %	25
338 U/L = 5,63 μ kat/L	1,0 %	25

- Sensibilità: 0,304 Δ mA·L/U·min = 18,2 Δ mA·L/ μ kat·min.
 - Veracità: I risultati ottenuti con questi reattivi non mostrano differenze sistematiche significative se comparati con reattivi di riferimento. I dettagli dello studio comparativo sono disponibili a richiesta.
 - Interferenze: La lipemia (trigliceridi 10 g/L) e la bilirubina (20 mg/dL) non interferiscono. L'emoglobina (2,5 g/L) interferisce. Altri farmaci e sostanze possono interferire⁵.
- Questi dati sono stati ottenuti utilizzando un analizzatore. I risultati possono variare al cambiare di strumento o realizzando il procedimento manuale.

CARATTERISTICHE DIAGNOSTICHE

La α -amilasi catalizza l'idrolisi degli amidi α -1,4 dei carboidrati costituiti per unità di α -D-glucosio, originando la formazione di destrano, maltosio e glucosio. L' α -amilasi è prodotta principalmente nel pancreas esocrino (tipo-P) e nelle ghiandole salivari (tipo-S) comunque si riscontra anche in altri tessuti.

La determinazione dell'attività amilasica nel siero e urine è utile principalmente per la diagnosi di patologie pancreatiche come la pancreatite cronica o acuta. La iperamilasemia può essere dovuta a insufficienza renale, dolore addominale acuto, tumore al polmone e alle ovaie, lesioni nelle ghiandole salivari, macroamilasemia, ketoacidosi diabetica, malattie del tratto biliare, trauma cerebrale, alcoolismo cronico e farmaci (oppiacei)^{6,7}.

La diagnosi clinica non può essere fatta tenendo conto del risultato di un unico esame, ma deve integrare i dati clinici e di laboratorio.

NOTE

1. La saliva e la pelle contengono α -amilasi. Non pipettare il reattivo con la bocca ed evitare il contatto del reattivo con la pelle.
2. Questo reattivo può essere utilizzato sulla maggior parte degli analizzatori automatici. Sollecitate informazione al vostro distributore.

BIBLIOGRAFIA

1. Lorentz K, Gütschow B, Renner F. Evaluation of a direct alpha-amylase assay using 2-chloro-4-nitrophenyl-alpha-D-maltotrioside. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37: 1053-1062.
2. Gella FJ, Gubern G, Vidal R, Canalias F. Determination of total and pancreatic α -amylase in human serum with 2-chloro-4-nitrophenyl- α -D-maltotrioside as substrate. *Clin Chim Acta* 1997; 259: 147-160.
3. Gubern G, Balsells D, Ferragut R, Galán A, Gella FJ, et al. Procedimiento recomendado para la determinación en rutina de la concentración catalítica de α -amilasa en suero sanguíneo humano. *Quim Clin* 1996; 15: 51-52.
4. Balsells D, Gella FJ, Gubern G, Canalias F. Reference values for α -amylase in human serum and urine using 2-chloro-4-nitrophenyl- α -D-maltotrioside as substrate. *Clin Chim Acta* 1998; 274: 213-217.
5. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
6. Fried DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
7. Youngman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.