



COD 11534 1 x 40 mL

CONSERVARE A 2-8°C

Reattivi per la determinazione di α -amilasi
Solo per uso *in vitro* nel laboratorio clinico**PRINCIPIO DEL METODO**

La α -amilasi catalizza l'idrolisi del 4-nitrofenil-maltoheptaoside-etilidene a oligosaccaridi, che sono substrati per la glucoamilasi e α -glucosidasi, capaci di liberare 4-nitrofenolo. La concentrazione catalitica si determina a partire dalla velocità di formazione del 4-nitrofenolo, misurata a 405 nm.^{1,2,3}

CONTENUTO E COMPOSIZIONE

- A. Reagente. 1 x 32 mL. HEPES 50 mmol/L, cloruro di magnesio 0,075 mmol/L, cloruro di sodio 90 mmol/L, cloruro di magnesio 13mmol/L α -glucosidasi >4 U/mL, pH 7,1.
B. Reagente. 1 x 8 mL. HEPES 50 mmol/L 4-nitrofenil-maltoheptaoside-etilidene 18 mmol/L pH 7,1.

CONSERVAZIONE

Conservare a 2-8°C.

I reattivi sono stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, purché conservati ben chiusi ed evitandone la contaminazione durante l'uso.

Indicazioni di deterioramento:

- Reattivi: Presenza di particelle, torbidità, assorbanza del bianco superiore a 0,300 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

Soluzione di Lavoro: Versare il contenuto di un flacone di Reagente B in un flacone di Reagente A. (Nota 1). Mescolare.

Per preparare volumi diversi, mescolare nella proporzione: 4 mL di Reagente A + 1 mL di Reagente B.

La Soluzione di lavoro è stabile 20 giorni a 2-8°C.

MATERIALI AGGIUNTIVI

- Spettrofotometro o fotometro con cuvetta termostata 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. Utilizzare eparina o EDTA come anticoagulante.

La α -amilasi nelle urine è stabile 1 mese a 2-8 °C sempre che il pH venga regolato circa a 7 per la conservazione.

PROCEDIMENTO

- Preincubare la Soluzione di Lavoro e il fotometro alla temperatura di lavoro.
- Pipettare in una cuvetta: (Note 1 e 2):

	Siero/Plasma 37°C	Urine 37°C
Reattivo di Lavoro	1,0 mL	1,0 mL
Campione	30 μ L	15 μ L

- Mescolare ed inserirla nel portacuvette termostato. Avviare il cronometro.
- Dopo 1 minuto, annotare l'assorbanza iniziale ed effettuare nuove letture ogni minuto per 3 minuti.
- Calcolare l'incremento medio d'assorbanza per minuto ($\Delta A/\text{min}$).

CALCOLO

La concentrazione di α -amilasi nel campione viene calcolata a partire dalla seguente formula generale:

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

Il coefficiente di estinzione molare (ϵ) del 4-nitrofenol a 405 nm è 10.600 e il cammino ottico (l) è 1 cm. Per campioni di siero e plasma, il volume totale di reazione (Vt) è 1,030 a 37°C mentre il volume di campione (V_s) è 0,030 a 37°C. Per campioni di urine, il volume totale di reazione (Vt) è 1,015 a 37°C e il volume di campione (V_s) è 0,015 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	x 3239 = U/L x 53,8 = μ kat/L
	Urine	x 6384 = U/L x 105,9 = μ kat/L

VALORI DI RIFERIMENTO

Temperatura di reazione	Siero, plasma		Urine	
	U/L	μ kat/L	U/L	μ kat/L
37°C, fino a 4*	28 - 100	0,47 - 1,67	16 - 491	0,26 - 8,15

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

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

Le caratteristiche metrologiche di seguito illustrate sono state ottenute con un analizzatore A25 seguendo le linee guida del Clinical & Laboratory Standards Institute, CLSI.

- Limite di rilevabilità: 2,79 U/L = 0,046 μ kat/L. Limite di quantificazione: 13,0 U/L = 0,217 μ kat/L.
– Limite di linearità: 1300 U/L = 21,7 μ kat/L. Intervallo di misurazione: 13,0 - 1300 U/L (siero) = 28,9 - 2600 U/L (urine).
– Precisione:

Siero. Concentrazione media	Ripetibilità (CV)	In laboratorio (CV)
55,0 U/L = 0,91 μ kat/L	2,4 %	3,8 %
211 U/L = 3,50 μ kat/L	1,4 %	2,1 %
1049 U/L = 17,4 μ kat/L	1,2 %	1,4 %

Urine. Concentrazione media	Ripetibilità (CV)	In laboratorio (CV)
182 U/L = 3,03 μ kat/L	1,3 %	2,3 %
418 U/L = 6,94 μ kat/L	1,5 %	2,3 %
1982 U/L = 32,9 μ kat/L	1,0 %	1,7 %

- Veridicità: i risultati ottenuti con questi reagenti non hanno evidenziato differenze sistematiche significative se raffrontati con reagenti di riferimento. I dati degli esperimenti comparativi sono disponibili su richiesta.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- Interferenze: la bilirubina (fino a 30 mg/dL), l'emolisi (emoglobina fino a 604 mg/dL) e la lipemia (trigliceridi fino a 659 mg/dL) non interferiscono. Eventuali interferenze da altri farmaci e sostanze⁵.

CARATTERISTICHE DIAGNOSTICHE

La α -amilasi catalizza l'idrolisi dei gruppi α -1,4 dei carboidrati costituiti da unità di α -D-glucosio, originando la formazione di destrano, maltosio e glucosio. La α -amilasi viene prodotta principalmente nel pancreas esocrino (tipo-P) e nelle ghiandole salivari (tipo-S) tuttavia a volte si riscontra 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 a volte può essere dovuta ad insufficienza renale, dolore addominale acuto, tumore ai polmoni e ovaie, lesioni alle ghiandole salivari, macroamilasemia, chetoacidosi diabetica, patologie del tratto biliare, trauma cerebrale, alcolismo cronico e medicinali (oppiacei)^{6,7}.

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

NOTE

- La saliva e la pelle contengono α -amilasi. Non pipettare il reattivo con la bocca ed evitare il contatto del reattivo con la pelle.
- Questo reattivo può essere utilizzato sulla maggioranza degli analizzatori automatici. Applicativi disponibili a richiesta.

BIBLIOGRAFIA

- IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 8. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of α -amylase. *Clin Chem Lab Med* 2006; 44: 1146-1155.
- IFCC reference procedures for measurement of catalytic concentrations of enzymes: corrigendum, notes and useful advice. *Clin Chem Lab Med* 2010; 48: 615-621.
- Lorentz K. Routine α -amylase assay using protected 4-nitrophenyl-1,4- α -D-maltoheptaoside and a novel α -glucosidase. *Clin Chem* 2000;46:644-649.
- Junge W, Werner W, Wilke B et al. Development and evaluation of assays for the determination of total and pancreatic amylase at 37°C according to the principle recommended by the IFCC. *Clin Biochem* 2001;34:607-615.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 2005.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.

