

Reactivo Amilasa EPS-G7

para sistemas[†] Beckman Coulter™ SYNCHRON® y UniCel®

REF A45288 (2 x 200 pruebas)

USO PREVISTO

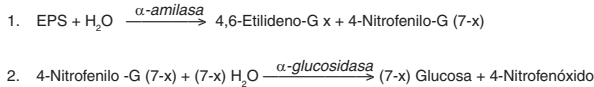
Reactivo para la determinación cuantitativa de α -Amilasa (1,4- α -D-glucan glucanohidrolasa EC3.2.1.1) en suero, plasma u orina humanos en analizadores Synchron CX/LX y UniCel DxC Systems de Beckman Coulter.

RELEVANCIA CLÍNICA^{1,2}

La α -Amilasa cataliza la hidrólisis de los enlaces 1,4 - α -glucosídicos en polisacáridos para producir maltosa y otros oligosacáridos. La enzima es una molécula relativamente pequeña que se elimina en los riñones y que se excreta en la orina. La enzima presente en el suero y en la orina es principalmente de origen pancreático (P-AMY) y salival (S-AMY).
Lo más frecuentemente, la α -Amilasa se cuantifica en el diagnóstico de la pancreatitis aguda, cuando los niveles séricos pueden ser extremadamente elevados (es habitual una elevación de entre cuatro y seis veces por encima del límite de referencia superior). En la pancreatitis aguda, los niveles de α -Amilasa comienzan a aumentar entre 5 y 8 horas después de la aparición de los síntomas, alcanzan un máximo entre 12 y 72 horas y vuelven a los niveles normales al cabo del 3er ó 4º día.

METODOLOGÍA^{2,3}

Los métodos de determinación de Amilasa que utilizan sustratos bien definidos con cadenas de glucosilo cortas presentan ventajas importantes sobre los procedimientos amiloclásticos y sacarogénicos y, como resultado, han ganado una amplia aceptación. Uno de dichos sustratos, etilideno-pNP-G7 (E-pNP-G7), también conocido comúnmente como EPS, se utiliza en este método. El uso del etilideno evita que las exo - enzimas destruyan al sustrato, de forma que en ausencia de α -Amilasa no se observa cambio de color.
La α -Amilasa presente en la muestra rompe al sustrato liberando fragmentos más pequeños que se ven afectados por la α -glucosidasa, causando la liberación final del cromóforo. Las series de reacciones implicadas en este sistema de ensayo son como sigue:



La velocidad de formación de 4-Nitrofenóxido es proporcional a la α -Amilasa presente en la muestra y se cuantifica mediante la velocidad de aumento de la absorbancia a 410 nm (longitud de onda secundaria de 560 nm) en el analizador Synchron CX/LX y UniCel DxC Systems de Beckman Coulter. Cuando opere con Parámetros de Sistema aprobados, el Reactivo Amilasa EPS-G7 obtendrá los valores de Amilasa IFCC.

COMPOSICIÓN DEL REACTIVO

Ingredientes activos

Reactivo A (Compartimento A)

	Concentración
α -glucosidasa (microbiana)	>9700 U/L
NaCl	87 mmol/L
MgCl ₂	12,6 mmol/L
CaCl ₂	0,08 mmol/L
Tampón	53,3 mmol/L
Preservativo	
pH 7,2 ± 0,05 a 20°C.	
Reactivo B (Compartimento B)	
EPS	22 mmol/L
Tampón	54,4 mmol/L
Preservativo	
pH 7,2 ± 0,05 a 20°C.	

AVISO: Amilasa EPS-G7 es sólo para uso diagnóstico in vitro. No ingerir. Evite el contacto con la piel y con los ojos. En caso de contacto, lave abundantemente las áreas afectadas con agua. El reactivo contiene Azida de Sodio que puede reaccionar con las tuberías de cobre o de plomo. Añada una gran cantidad de agua antes de verterlo. Para información adicional, consulte la Hoja de Datos de Seguridad del Reactivo de Amilasa EPS-G7 para sistemas Synchron CX/LX y UniCel DxC de Beckman Coulter.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

El reactivo se suministra listo para su uso. Transferir el contenido del Reactivo A y del Reactivo B a los compartimentos adecuados del Cartucho Definido por el usuario incluido en el kit, según se muestra en la tabla siguiente. Tenga cuidado para evitar la contaminación.

Kit Amilasa EPS-G7	Compartimento A	Compartimento B
Reactivo A	40 mL	-
Reactivo B	-	8,5 mL

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

Los reactivos sin abrir se mantienen estables hasta la fecha de caducidad, cuando se almacenan a 2-8°C. Cuando se almacenan en sistemas Synchron CX/LX y UniCel DxC, el reactivo se mantiene estable durante 35 días.

Indicios del deterioro del reactivo:

- Turbidez
- Imposibilidad de recuperar los valores de control dentro del intervalo asignado
- Indicación "BL ABS HI".

TOMA Y MANEJO DE LAS MUESTRAS

Suero: Use suero no hemolizado.

Plasma: Heparina-Li o Heparina-Na.

Orina: Las tomas aleatorizadas o temporizadas son muestras válidas.⁴

Storage: La α -Amilasa es excepcionalmente estable y las muestras de suero se pueden almacenar durante al menos 4 días a temperatura ambiente y durante al menos 2 semanas a 4°C.² Las muestras de orina son estables hasta 7 días almacenadas a 4°C. En caso de que se prevea un retraso en el transporte de la muestra de orina al laboratorio, se recomienda el uso de un conservante químico tal como mertiolato (0,24 mmol/L).⁴

MATERIALES SUMINISTRADOS

- Reactivo de Amylase EPS-G7 Thermo Scientific para sistemas Synchron CX/LX y UniCel DxC de Beckman Coulter.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Analizador químico Synchron CX/LX y UniCel DxC de Beckman Coulter.
- Copas para muestras de Beckman Coulter.
- Controles analizados normales y anómalos.

PROCEDIMIENTOS DE PRUEBA

Cargar el reactivo en el sistema tal como se indica en el Manual de Operaciones. Cargar las muestras del programa y los controles para análisis tal como se indica en el Manual de Operaciones. Para parámetros del analizador Synchron CX/LX y UniCel DxC Systems consultar la sección Parámetros de Sistema de estas instrucciones de uso.

CALIBRACIÓN

No se requiere calibración. El analizador Synchron CX/LX y UniCel DxC Systems calcula las U/L de actividad multiplicando la velocidad de reacción medida por el Factor de Cálculo programado (Consultar la Sección de Parámetros de Sistema de estas instrucciones de uso). El factor de cálculo se ha obtenido para proporcionar trazabilidad al procedimiento de medida de referencia de Amilasa IFCC.³

CÁLCULOS

El analizador Synchron CX/LX y UniCel DxC Systems calcula los resultados de forma automática.

Conversión de unidades: U/L x 16,67 x 10⁻³ = μ kat/L.

CONTROL DE CALIDAD

Para asegurar un control de calidad adecuado, se deberían introducir controles normales y anormales como muestras desconocidas:

- Al menos una vez al día o según lo establecido por el laboratorio.
 - Cuando se usa un cartucho nuevo de reactivo.
 - Después de realizar un mantenimiento preventivo o de sustituir un componente crítico.
- Los resultados de control que caen fuera de los límites superior o inferior de los intervalos establecidos indican que el ensayo puede estar fuera de control.
- En tales situaciones se recomiendan las siguientes acciones correctoras:
- Repetir los mismos controles.
 - Si los controles repetidos están fuera de los límites, preparar suero de control fresco y repetir la prueba.
 - Si los resultados del material de control fresco aún permanecen fuera de los límites, repita la prueba con reactivo fresco.
 - Si los resultados aún están fuera de control, contacte con el Servicio Técnico o con su distribuidor local.

LIMITACIONES

1. Los estudios de especificidad analítica para determinar el nivel de interferencia entre varios componentes de la muestra se llevaron a cabo en los analizadores CX y LX/DxC. No se observó interferencia por debajo de los siguientes límites de concentración de interferente (criterio de aprobación, valor de control inicial \pm 10%):

	LX/DxC	CX
Hemoglobina	900 mg/dL	1000 mg/dL
Lipemia (usando Intralipid)	2000 mg/dL	1000 mg/dL
Glucosa	2160 mg/dL	2160 mg/dL
Bilirrubina libre	60 mg/dL	60 mg/dL
Bilirrubina conjugada	60 mg/dL	60 mg/dL
Ácido ascórbico:	200 mg/dL	200 mg/dL

VALORES ESPERADOS⁵

Suero/Plasma:	A 37°C	28 - 100 U/L (0,468 - 1,67 μ kat/L)
*Orina - Varón	A 37°C	16 - 491 U/L (0,267 - 8,18 μ kat/L)
*Orina - Mujer	A 37°C	21 - 447 U/L (0,350 - 7,45 μ kat/L)

⁵Se calcularon los valores esperados para la orina a partir de muestras obtenidas por micción espontánea

INFORMACIÓN ADICIONAL

Puesto que Beckman Coulter no fabrica el reactivo ni lleva a cabo el control de calidad ni otras pruebas sobre los lotes individuales, Beckman Coulter no puede responsabilizarse de la calidad de los datos obtenidos debida al funcionamiento del reactivo, a cualquier variación entre los lotes del reactivo, o a cambios de protocolo llevados a cabo por parte del fabricante.

DAÑOS DURANTE EL TRANSPORTE

Si se recibe un producto dañado, notifíquelo a su Centro de Soporte Clínico de Beckman Coulter.

DATOS DE FUNCIONAMIENTO

Los datos siguientes se obtuvieron usando el Reactivo Thermo Scientific Amilasa EPS-G7 en el analizador Synchron CX/LX y UniCel DxC Systems de Beckman Coulter de acuerdo con procedimientos establecidos.

RANGO DE DETERMINACIÓN

Cuando se efectúa según las recomendaciones, el rango de medición del ensayo en todas las matrices de espécimen es como sigue:

LX/DxC:	4 - 2000 U/L (0,067 - 33,3 μ kat/L)
CX:	4 - 1800 U/L (0,067 - 30,0 μ kat/L)

LÍMITE INFERIOR DE DETECCIÓN

El límite de detección representa el nivel de analito medible más bajo que se puede distinguir de forma significativa de cero. Se calcula como el valor situado dos desviaciones típicas por encima de la estimación de la media para una muestra cero (blanco) apropiada.

Cuando se opera tal como se recomienda, el límite de detección es:

LX/DxC: 4 U/L (0,067 µkat/L)

CX: 4 U/L (0,067 µkat/L)

IMPRECISIÓN

La precisión se evaluó usando la directriz EP5-A2 del NCCLS (CLSI).⁶ Los estudios para representar el rendimiento típico de un analizador sometido a un buen mantenimiento se llevaron a cabo en el mismo emplazamiento durante un periodo de 20 días (40 pruebas) usando tres niveles de suero de control de calidad disponible comercialmente y dos niveles de orina de control de calidad. Se llevaron a cabo dos pruebas al día por parte del mismo operario en los mismos lotes de reactivos, en analizadores individuales CX y LX/DxC.

LX/DxC	Suero						Orina				
	NIVEL I		NIVEL II		NIVEL III		NIVEL I		NIVEL II		
	U/L	µkat/L	U/L	µkat/L	U/L	µkat/L	U/L	µkat/L	U/L	µkat/L	
n	80		80		80		80		80		
Media	69	1,15	289	4,82	800	13,3	53	0,884	155	2,58	
Intraanálisis	SD	1,5	0,025	2,6	0,043	9,9	0,165	1,7	0,028	1,7	0,028
	CV %	2,2		0,9		1,2		3,2		1,1	
Total	SD	1,5	0,025	3,8	0,063	9,9	0,165	1,9	0,032	3,2	0,053
	CV %	2,3		1,3		1,2		3,5		2,1	

CX	Suero						Orina				
	NIVEL I		NIVEL II		NIVEL III		NIVEL I		NIVEL II		
	U/L	µkat/L	U/L	µkat/L	U/L	µkat/L	U/L	µkat/L	U/L	µkat/L	
n	80		80		80		80		80		
Media	70	1,17	285	4,75	810	13,5	54	0,900	157	2,62	
Intraanálisis	SD	1,8	0,030	3,3	0,055	4,8	0,080	2,5	0,042	2,1	0,035
	CV %	2,6		1,2		0,6		4,6		1,4	
Total	SD	2,3	0,038	4,1	0,068	7,8	0,130	2,8	0,047	2,9	0,048
	CV %	3,3		1,4		1,0		5,2		1,9	

COMPARACIÓN DEL MÉTODO

Los estudios de comparación se llevaron a cabo usando la directriz EP9-A2 del NCCLS (CLSI).⁷ Se usó un reactivo Amilasa EPS-G7 disponible comercialmente como método de referencia (X), usando las aplicaciones recomendadas en un analizador Roche Hitachi 911.⁸ El método de ensayo (Y) se ejecutó con las aplicaciones recomendadas en los analizadores Synchron CX/LX y UniCel DxC de Beckman Coulter. Las muestras de suero / plasma y orina se analizaron en paralelo, tanto mediante los métodos de ensayo, como mediante los métodos de referencia y los resultados se compararon mediante la regresión de Deming. Se obtuvieron los siguientes datos estadísticos:

LX/DxC	Suero/Plasma		Suero		Plasma		Orina	
	U/L	µkat/L	U/L	µkat/L	U/L	µkat/L	U/L	µkat/L
n	111		70		41		106	
Intervalo	45 - 1864	0,750 - 31,1	45 - 1864	0,750 - 31,1	46 - 1493	0,768 - 24,9	17 - 1884	0,283 - 31,4
X-Media	410	6,83	400	6,68	428	7,15	400	6,67
Y-Media	396	6,60	386	6,45	414	6,91	403	6,72
Pendiente	0,975		0,973		0,979		1,027	
Ordenada en el origen	-3,7	-0,062	-3,0	-0,050	-4,8	0,080	-7,6	0,127
r	0,9994		0,9994		0,9995		0,9992	

CX	Suero/Plasma		Suero		Plasma		Orina	
	U/L	µkat/L	U/L	µkat/L	U/L	µkat/L	U/L	µkat/L
n	111		70		41		99	
Intervalo	45 - 1864	0,750 - 31,1	45 - 1864	0,750 - 31,1	46 - 1493	0,768 - 24,9	17 - 1493	0,283 - 24,9
X-Media	410	6,83	400	6,68	428	7,15	332	5,53
Y-Media	395	6,58	386	6,45	411	6,86	350	5,83
Pendiente	0,972		0,970		0,975		1,065	
Ordenada en el origen	-3,2	-0,053	-1,5	-0,025	-6,1	-0,102	-4,1	-0,068
r	0,9991		0,99993		0,9987		0,9975	

También se llevaron a cabo estudios de comparación de la misma forma que la descrita anteriormente, usando el reactivo BCI Amilasa como método de referencia (X). Se obtuvieron los siguientes datos estadísticos:

LX/DxC	Sérum/Plasma		Urine	
	U/L	µkat/L	U/L	µkat/L
n	110		101	
Plage	29 - 797	0,483 - 13,3	27 - 779	0,450 - 13,0
X-Moyenne	191	3,18	292	4,87
Y-Moyenne	152	2,53	227	3,78
Pente	0,791		0,726	
Coordonnées à l'origine	0,5	0,008	15,1	0,252
r	0,9987		0,9983	

CX	Sérum/Plasma		Urine	
	U/L	µkat/L	U/L	µkat/L
n	112		110	
Plage	29 - 798	0,483 - 13,3	31 - 773	0,517 - 12,9
X-Moyenne	219	3,65	289	4,82
Y-Moyenne	181	3,02	234	3,90
Pente	0,830		0,775	
Coordonnées à l'origine	-0,6	-0,010	10,0	0,167
r	0,9975		0,9963	

Reactivo Amilasa EPS-G7

para sistemas[†] Beckman Coulter™ SYNCHRON® y UniCel®

Parámetros de Sistema

PARÁMETROS DEL INSTRUMENTO:

	Synchron CX	Synchron LX/UniCel DxC
Nombre de la prueba:	AMYX	AMYX
Tipo de reacción:	Velocidad 1	Velocidad 1
Unidades:	U/L	U/L
Precisión Decimal:	X	X
Dirección de la reacción:	POSITIVO	POSITIVO
Modelo matemático:	LINEAL	LINEAL
Factor de cálculo:	6220	6220
Límite del tiempo de calibración:	0	0
Número de calibradores:	0	0
1		
2		
3		
4		
5		
6		
Longitud de onda primaria:	410	410
Longitud de onda secundaria:	560	560
Volumen de la muestra:	7 µL	7 µL

REACTIVOS:

Inyección primaria (primera)/primera inyección		
Compartimiento/componente:	A	A
Volumen/volumen administrado:	175 µL	175 µL
Tiempo de adición/tiempo de inyección:	0 s	0 s
Inyección primaria (primera)/segunda inyección		
Compartimiento/componente:	B	B
Volumen/volumen administrado:	35 µL	35 µL
Tiempo de adición/tiempo de inyección:	0 s	-180 s
Inyección secundaria/tercera inyección		
Compartimiento/componente:	Ninguno	Ninguno
Volumen/volumen administrado:	0	0
Tiempo de adición/tiempo de inyección:	n/p	n/p

REACTIVOS:

Blanco		
Lectura inicial:	220 s	-80 s
Lectura final:	280 s	-20 s
Reacción 1		
Lectura inicial:	180 s	180 s
Lectura final:	270 s	300 s
Reacción 2		
Lectura inicial:	n/p	n/p
Lectura final:	n/p	n/p

Reactivo Amilasa EPS-G7

para sistemas[†] Beckman Coulter™ SYNCHRON® y UniCel®


Parámetros de Sistema

PARÁMETROS DEL INSTRUMENTO:	Synchron CX	Synchron LX/UniCel DxC
INTERVALO DE RESULTADOS ÚTIL:		
Límite inferior:	4	4
Límite superior:	1800	2000
LÍMITES DE DETECCIÓN DE ERRORES:		
Blanco de reactivo/blanco		
Límite inferior ABS:	-0,100	-0,100
Límite superior ABS:	0,250	0,250
Límite Inferior de Velocidad:	n/p	-1,500
Límite Superior de Velocidad:	n/p	2,200
Desviación Media:	n/p	2,200
Reacción/reacción 1		
Límite inferior ABS:	-0,100	-0,100
Límite superior ABS:	1,500	2,200
Límite Inferior de Velocidad:	n/p	-1,500
Límite Superior de Velocidad:	n/p	2,200
Desviación Media:	n/p	2,200
Reacción 2		
Límite inferior ABS:	n/p	-1,500
Límite superior ABS:	n/p	2,200
Límite Inferior de Velocidad:	n/p	-1,500
Límite Superior de Velocidad:	n/p	2,200
Desviación Media:	n/p	2,200
AGOTAMIENTO DEL SUSTRATO:		
Velocidad inicial:	99,999	99,999
Delta ABS:	1,500	2,200
MARGEN MULTIPUNTO:	n/p	n/p

BIBLIOGRAFÍA

1. JF Zilva and PR Pannall. "Plasma Enzymes in Diagnosis" in Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment. Lloyd-Luke London 1979: Chapter XV: 341-2
2. M Panteghini, Bais, R and van Solinge "Enzymes" in Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Elsevier Saunders 2006 Chapter 21 616-7.
3. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytre activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 8. Reference procedure for the measurement of catalytre concentration of α -Amylase. Clin Chem Lab Med 2006: 1146-55
4. Shephard MDS, Mazzachi RD. The Clin Biochem 1983; 4: 61-7.
5. Junge, W.et. al. 'Development 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 - 15.
6. Tholen, D. W. et. al. 'EP5-A2. Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; Approved guideline – second edition. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2004; Volume 24: Number 25.
7. Krouwer, J. S. et al. 'EP9-A2. Method comparison and bias estimation using patient samples; Approved guideline – second edition. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2002; Volume 22: Number 19.













© 2008 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. Hitachi 911® is a registered trademark of Roche Diagnostics, Indianapolis, IN 46250. ‡SYNCHRON LX®/CX® and UniCel® DxC are registered trademarks of Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA 92835. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

 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



SÍMBOLOS EN EL ETIQUETADO DEL PRODUCTO

	Representante autorizado		Limitación de temperatura
	Para uso en diagnósticos in vitro		Usar hasta/Fecha de caducidad
	Código de lote/Número de lote		PRECAUCIÓN. Consulte las instrucciones de uso.
	Número de catálogo		Fabricado por
	Consulte las instrucciones de uso		Reactivo B
	Reactivo A		NoReUtilizar