

Reagente Amilasi EPS-G7

per sistemi[†] Beckman Coulter[™] SYNCHRON[®] e UniCel[®]

REF A45288 (2 x 200 test)

USO PREVISTO

Reagente per la determinazione quantitativa di α -amilasi (1,4- α -D-glucan gluconoidrolasi EC3.2.1.1) nel siero umano, nel plasma e nell'urina mediante sistemi Beckman Coulter Synchron CX/LX e UniCel Dx.C.

IMPORTANZA CLINICA^{1,2}

L' α -Amilasi catalizza l'idrolisi dei legami 1,4- α -glucosidici nei polisaccaridi per produrre maltosio e altri oligosaccaridi. L'enzima è una molecola relativamente piccola rapidamente filtrata dai reni ed escreta nell'urina. L'enzima presente nel siero e nell'urina è di origine prevalentemente pancreatica (P-AMY) e salivaria (S-AMY).

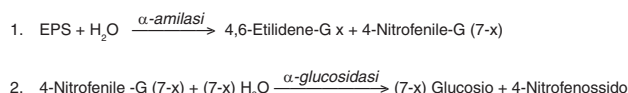
Nella maggior parte dei casi l' α -amilasi viene misurata nella diagnosi di pancreatite acuta quando i livelli di siero possono essere notevolmente elevati (un aumento da quattro a sei volte oltre il limite superiore di riferimento è normale). Nella pancreatite acuta, i livelli di α -amilasi iniziano ad aumentare dopo circa 5-8 ore dalla comparsa dei sintomi, raggiungendo il picco dopo 12-72 ore e tornando ai livelli normali entro il 3[°]-4[°] giorno.

METODOLOGIA^{2,3}

I metodi a base di amilasi che utilizzano substrati ben definiti con catene glucosiliche corte offrono notevoli vantaggi rispetto alle procedure amiloclastiche e saccarogeniche e di conseguenza, sono divenuti ampiamente accettati. In questo metodo è utilizzato uno di tali substrati, l'etilidene-pNP-G7 (E-pNP-G7), comunemente noto anche come EPS. L'utilizzo di etilidene previene la disgregazione del substrato da parte degli eso-enzimi, quindi in assenza di α -amilasi non viene osservata alcuna variazione di colore.

L' α -Amilasi presente nel campione spacca il substrato rilasciando frammenti più piccoli su cui agisce l' α -glucosidasi, causando il rilascio finale del cromoforo.

La serie di reazioni interessata dal sistema di analisi è la seguente:



La velocità di formazione di 4-Nitrofenossido è proporzionale all' α -amilasi presente nel campione ed è misurata mediante la velocità di aumento dell'assorbanza a 410 nm (lunghezza d'onda secondaria di 560 nm) sui sistemi Beckman Coulter Synchron CX/LX e UniCel Dx.C. Quando condotto secondo parametri di sistema approvati, il reagente Amilasi EPS-G7 ripristina i valori di IFCC Amilasi.

COMPOSIZIONE DEL REAGENTE

Ingredienti attivi

Reagente A (Sezione A)

	Concentrazione
α -glucosidasi (microbica)	>9700 U/L
NaCl	87 mmol/L
MgCl ₂	12,6 mmol/L
CaCl ₂	0,08 mmol/L
Tampone	53,3 mmol/L

Conservante
pH 7,2 ± 0,05 a 20°C.

Reagente B (Sezione B)

EPS	22 mmol/L
Tampone	54,4 mmol/L

Conservante
pH 7,2 ± 0,05 a 20°C.

AVVERTENZA: Amylase EPS-G7 è esclusivamente per uso diagnostico in vitro. 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. Smettere con abbondante acqua. Per maggiori informazioni, consultare la documentazione di sicurezza del Reagente Amylase EPS-G7 per sistemi Beckman Coulter Synchron CX/LX e UniCel Dx.C.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE

Il reagente è fornito pronto per l'uso. Trasferire il contenuto del Reagente A e del Reagente B in sezioni appropriate della cartuccia definita dall'utente inclusa nel kit, come mostrato nella tabella sotto. Fare attenzione a evitare la contaminazione.

Kit Amilasi EPS-G7	Sezione A	Sezione B
Reagente A	40 mL	-
Reagente B	-	8,5 mL

STABILITÀ E CONSERVAZIONE

I reagenti non aperti sono stabili fino alla data di scadenza, se conservati a una temperatura compresa tra 2-8°C. Se conservato in sistemi Synchron CX/LX e UniCel Dx.C, il reagente è stabile per 35 giorni.

Indications of Reagent Deterioration:

- Torbidità
- Mancato ripristino dei valori di controllo nell'intervallo assegnato
- Flag "BL ABS HI"

RACCOLTA E MANIPOLAZIONE CAMPIONI

Siero: Utilizzare siero non emolizzato.

Plasma: Li-eparina o Na-eparina.

Urina: Le raccolte casuali o temporizzate costituiscono campioni validi.⁴

Conservazione: L' α -Amilasi è eccezionalmente stabile e i campioni di siero possono essere conservati per almeno 4 giorni a temperatura ambiente e per almeno 2 settimane a 4°C.² 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 Mertioloato (0,24 mmol/L).⁴

MATERIALI FORNITI

- Thermo Scientific Amilasi EPS-G7 per sistemi Beckman Coulter Synchron CX/LX e UniCel Dx.C.

MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

- Analizzatore chimico Beckman Coulter Synchron CX/LX e UniCel Dx.C.
- Contenitori per campioni Beckman Coulter.
- Materiale di controllo analizzato normale e anormale.

PROCEDURE DI PROVA

Caricare il reagente nel sistema come indicato nel manuale di istruzioni. Programmare i campioni e i controlli per l'analisi come indicato nel manuale di istruzioni.

Per i parametri dei sistemi Synchron CX/LX e UniCel Dx.C, fare riferimento alla sezione Parametri di sistema di questo inserto.

CALIBRAZIONE

La calibrazione non è necessaria. Il sistema Synchron CX/LX e UniCel Dx.C calcola la U/L di attività moltiplicando la velocità di reazione misurata per il fattore di calcolo programmato (fare riferimento alla sezione Parametri di sistema di questo inserto). Il fattore di calcolo è stato derivato per consentire la tracciabilità della procedura di misurazione di riferimento dell'IFCC Amilasi.³

CALCOLO

I risultati sono calcolati automaticamente dai sistemi Synchron CX/LX e UniCel Dx.C.

Conversione unità: U/L x 16,67 x 10⁻³ = μ kat/L.

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 cartuccia 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

1. Studi analitici di specificità sono stati condotti sul CX e il LX/DxC per determinare il livello di interferenza di vari componenti campione. Non è stata osservata alcuna interferenza al di sotto dei seguenti limiti di concentrazione interferente (criterio superato, valore iniziale di controllo ± 10%):

	LX/DxC	CX
Emoglobina	900 mg/dL	1000 mg/dL
Lipemia (utilizzando Intralipid)	2000 mg/dL	1000 mg/dL
Glucosio	2160 mg/dL	2160 mg/dL
Bilirubina libera	60 mg/dL	60 mg/dL
Bilirubina coniugata	60 mg/dL	60 mg/dL
Acido ascorbico	200 mg/dL	200 mg/dL

VALORI PREVISTI⁵

Siero/Plasma: A 37°C 28 - 100 U/L (0,468 - 1,67 μ kat/L)

*Urina - Maschio A 37°C 16 - 491 U/L (0,267 - 8,18 μ kat/L)

*Urina - Femmina A 37°C 21 - 447 U/L (0,350 - 7,45 μ kat/L)

[†]I valori previsti per l'urina sono stati calcolati da campioni di evacuazione spontanea.

INFORMAZIONI AGGIUNTIVE

Poiché Beckman Coulter non produce il reagente né esegue controlli di qualità o altri test sui singoli lotti, Beckman Coulter non può essere ritenuta responsabile della qualità dei dati ottenuti, dipendente dalle prestazioni del reagente, da eventuali variazioni tra lotti di reagente o da modifiche del protocollo da parte del fabbricante.

DANNI DURANTE IL TRASPORTO

In caso di ricevimento di prodotti danneggiati, informare il centro di assistenza clinica Beckman Coulter.

PRESTAZIONI

I dati seguenti sono stati ottenuti utilizzando il reagente Thermo Scientific Amilasi EPS-G7 su sistemi Beckman Coulter Synchron CX/LX e UniCel Dx.C secondo procedure ben note.

RANGE DI MISURAZIONE

Quando condotta come consigliato, l'intervallo di misurazione dell'analisi con tutte le matrici di campioni specificate, è il seguente:

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

LIMITE DI RILEVAZIONE

Il limite di rilevamento rappresenta il livello minimo misurabile di analita che può essere distinto in modo significativo da zero. È calcolato come valore tra due deviazioni standard al di sopra della media stimata per un campione zero (blank) appropriato.
 Quando condotto come consigliato, il limite di rilevamento è:

LX/DxC: 4 U/L (0,067 µkat/L)
 CX: 4 U/L (0,067 µkat/L)

IMPRECISIONE

La precisione è stata valutata utilizzando la linea guida NCCLS (CLSI) EP5-A2.⁶ Studi per rappresentare le prestazioni tipiche su un analizzatore mantenuto in efficienza sono stati condotti nello stesso sito nell'arco di un periodo di 20 giorni (40 cicli) utilizzando tre livelli di siero di controllo qualità disponibili in commercio e due livelli di urina di controllo qualità. Sono stati eseguiti due cicli al giorno dallo stesso operatore sugli stessi lotti di reagente, su analizzatori singoli CX e LX/DxC.

LX/DxC	Siero						Urina				
	LIVELLO I		LIVELLO II		LIVELLO III		LIVELLO I		LIVELLO 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	
Nel ciclo	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	
Totale	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	Siero						Urina				
	LIVELLO I		LIVELLO II		LIVELLO III		LIVELLO I		LIVELLO 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	
Nel ciclo	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	
Totale	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	

CONFRONTO DI METODO

Sono stati condotti studi comparativi utilizzando la linea guida NCCLS (CLSI) EP9-A2.⁷ Come metodo di riferimento (X) è stato utilizzato un reagente Amilasi EPS-G7 disponibile in commercio, utilizzando le applicazioni raccomandate su un analizzatore Roche Hitachi 911[®]. Il metodo di prova (Y) è stato eseguito con le applicazioni consigliate sugli analizzatori Beckman Coulter Synchron CX/LX e UniCel Dx.C. I campioni di siero/plasma e urina sono stati analizzati in parallelo con i metodi di prova e di riferimento e i risultati confrontati con la regressione di Deming. Le statistiche ottenute sono come segue:

LX/DxC	Siero/Plasma		Siero		Plasma		Urina	
	U/L	µkat/L	U/L	µkat/L	U/L	µkat/L	U/L	µkat/L
n	111		70		41		106	
Intervallo	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
Pendenza	0,975		0,973		0,979		1,027	
Intercetta	-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	Siero/Plasma		Siero		Plasma		Urina	
	U/L	µkat/L	U/L	µkat/L	U/L	µkat/L	U/L	µkat/L
n	111		70		41		99	
Intervallo	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
Pendenza	0,972		0,970		0,975		1,065	
Intercetta	-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	

Sono anche stati condotti studi comparativi con la stessa procedura descritta sopra utilizzando il reagente BCI Amilasi come metodo di riferimento (X). Le statistiche ottenute sono come segue:

LX/DxC	Siero/Plasma		Urina	
	U/L	µkat/L	U/L	µkat/L
n	110		101	
Intervallo	29 - 797	0,483 - 13,3	27 - 779	0,450 - 13,0
X-Media	191	3,18	292	4,87
Y-Media	152	2,53	227	3,78
Pendenza	0,791		0,726	
Intercetta	0,5	0,008	15,1	0,252
r	0,9987		0,9983	

CX	Siero/Plasma		Urina	
	U/L	µkat/L	U/L	µkat/L
n	112		110	
Intervallo	29 - 798	0,483 - 13,3	31 - 773	0,517 - 12,9
X-Media	219	3,65	289	4,82
Y-Media	181	3,02	234	3,90
Pendenza	0,830		0,775	
Intercetta	-0,6	-0,010	10,0	0,167
r	0,9975		0,9963	

Reagente Amilasi EPS-G7

per sistemi[†] Beckman Coulter[™] SYNCHRON[®] e UniCel[®]

Parametro di sistema

PARAMETRI STRUMENTO:

	Synchron CX	Synchron LX/UniCel DxC
Nome test:	AMYX	AMYX
Tipo di reazione:	Velocità 1	Velocità 1
Unità:	U/L	U/L
Precisione decimale:	X	X
Direzione di reazione:	POSITIVE	POSITIVE
Modello matematico:	Lineare	Lineare
Fattore di calcolo:	6220	6220
Limite tempo calibrazione:	0	0
Numero di calibratori:	0	0
1		
2		
3		
4		
5		
6		
Lunghezza d'onda primaria:	410	410
Lunghezza d'onda secondaria:	560	560
Volume campione:	7 µL	7 µL

REAGENTI:

Iniezione principale (prima)/Prima iniezione		
Sezione/componente:	A	A
Volume/Volume emesso:	175 µL	175 µL
Tempo aggiunta/tempo iniezione:	0 sec	0 sec
Iniezione principale (prima)/Seconda iniezione		
Sezione/componente:	B	B
Volume/Volume emesso:	35 µL	35 µL
Tempo aggiunta/tempo iniezione:	0 sec	-180 sec
Iniezione secondaria/Terza iniezione		
Sezione/componente:	Nessuno	Nessuno
Volume/Volume emesso:	0	0
Tempo aggiunta/tempo iniezione:	n/a	n/a

REAGENTI:

Blank		
Avvio lettura:	220 sec	-80 sec
Fine lettura:	280 sec	-20 sec
Reazione 1		
Avvio lettura:	180 sec	180 sec
Fine lettura:	270 sec	300 sec
Reazione 2		
Avvio lettura:	n/a	n/a
Fine lettura:	n/a	n/a

Reagente Amilasi EPS-G7

per sistemi[†] Beckman Coulter[™] SYNCHRON[®] e UniCel[®]


Parametri di sistema

PARAMETRI STRUMENTO:	Synchron CX	Synchron LX/UniCel DxC
INTERVALLO RISULTATI UTILIZZABILE:		
Limite inferiore:	4	4
Limite superiore:	1800	2000
LIMITI DI RILEVAMENTO ERRORI:		
Blank reagente/Blank		
Limite inferiore ABS:	-0,100	-0,100
Limite superiore ABS:	0,250	0,250
Limite inferiore velocità:	n/a	-1,500
Limite superiore velocità:	n/a	2,200
Deviazione media:	n/a	2,200
Reazione/reazione 1		
Limite inferiore ABS:	-0,100	-0,100
Limite superiore ABS:	1,500	2,200
Limite inferiore velocità:	n/a	-1,500
Limite superiore velocità:	n/a	2,200
Deviazione media:	n/a	2,200
Reazione 2		
Limite inferiore ABS:	n/a	-1,500
Limite superiore ABS:	n/a	2,200
Limite inferiore velocità:	n/a	-1,500
Limite superiore velocità:	n/a	2,200
Deviazione media:	n/a	2,200
RIDUZIONE SUBSTRATO		
Valore iniziale:	99,999	99,999
Delta ABS:	1,500	2,200
INTERVALLO MULTI-PUNTO:	n/a	n/a

RIFERIMENTI

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 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: 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



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		Reagente B
	Reagente A		Non riutilizzare