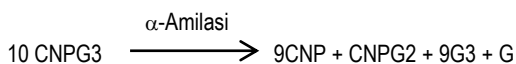


Determinazione Quantitativa di Alfa-Amilasi nel Siero, Plasma o Urina. Metodo cinetico (CNPG3)

**REF** CC1020 R1:4x25 mL

## PRINCIPIO DEL METODO

L'Alfa-Amilasi idrolizza il 2-cloro-p-nitrofenil- $\alpha$ -D-maltotrioside (CNPG3) per liberare 2-cloro-nitrofenil (CNP) e generare 2-cloro-p-nitrofenolo- $\alpha$ -D-maltoside (CNPG2), maltotriose (G3) e glucosio (G).



CNPG3: 2-cloro-4-nitrofenil malto trioside / CNP: Cloro-Nitro-Fenil  
G3: Maltotrioso / G: Glucosio

La formazione del CNPG2 incrementa l'assorbanza con misura a 405 nm in proporzione all'attività dell'alfa-amilasi nel campione.

## SIGNIFICATO CLINICO

L'amilasi è un enzima che viene prodotto principalmente nel pancreas e nelle ghiandole salivari. Una piccola parte viene secreta anche dal fegato e dalle tube di Falloppio, ma le quantità rintracciabili nel sangue sono prevalentemente di produzione delle ghiandole salivari.

Essa è coinvolta nella trasformazione dei carboidrati complessi in zuccheri semplici, come il glucosio.

È in genere utilizzata nella diagnosi differenziale del dolore addominale assieme all'amilasuria, per distinguere la presenza di una pancreatite acuta, patologia che normalmente viene trattata con terapia medica, da una occlusione intestinale, che spesso può richiedere un intervento chirurgico.

Il sospetto di pancreatite acuta, sindrome caratterizzata da un dolore improvviso e intenso in epigastrio, nonché da prostrazione fisica importante, viene confermato dal rapido innalzamento (3-6 ore) dell'amilasi e della lipasi, con un picco intorno alle 24 ore. La normalizzazione dei valori avviene nelle 48-72 ore successive all'evento acuto, dopo aver raggiunto e a volte superato, almeno tre-quattro volte quelli normali.

Pur essendo un esame strettamente correlato ed utilizzato nella diagnosi delle pancreatiti acute, si possono rilevare valori aumentati anche in altre situazioni: alcolismo, colelitiasi, parotite epidemica, rottura tubarica, ulcera peptica perforata, ipertiroidismo, insufficienza renale.

I valori tendono ad essere al di sotto del range di normalità nelle seguenti patologie: cirrosi epatica, epatiti, tireotossicosi grave, carcinoma del pancreas. Una significativa quantità di amilasi serica viene eliminata con le urine.

## COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

### Reagent (R1)

MES tampone, pH 6.0	100 mmol/L
NaCl	350 mmol/L
Ca-Acetato	6 mmol/L
Potassio tiocianato	900 mmol/L
CNP-G3	2.27 mmol/L
Stabilizzanti e detergenti	> 0.1 %

## PREPARAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

Reagente liquido e pronto all'uso, stabile fino alla data di scadenza riportata, se conservato come riportato in etichetta e si evitano contaminazione, evaporazioni ed esposizione prolungata alla luce diretta.

Non congelare i reagenti.

Reagente R1 Aperto: 14 giorni a 20-25° C e 28 giorni a 2-8° C.

Dopo l'apertura del flacone, si consiglia di prelevare il volume necessario, di richiudere immediatamente il flacone e di riporlo in frigo al fine di evitare contaminazione, degradazione da luce diretta ed evaporazione.

Scartare il reagente se appaiono segni di deterioramento come presenza di particelle e torbidità oppure mancato recupero dei valori di sieri di controllo certificati oppure se l' Assorbanza bianco reagente (Abs) a 405 nm è > 0.600 in cuvetta da 1 cm.

## CAMPIONI

Siero o Plasma da eparina (no EDTA). Separare da parte corpuscolata il prima possibile.

Urine: aggiustare il pH approssimativamente a 7,0 e poi diluire 1:2 (1+1) con acqua distillata. Stabilità: 1 mese a 2-8° C.

Scartare campioni contaminati.

## PROCEDURA

Lunghezza d'onda:	405 nm (400-420)
Temperatura:	+37° C
Misura:	contro acqua distillata

### Siero, Plasma, Urine:

Pipettare come segue:

Reagente R1	1000 $\mu$ L
Campione /Calibratore /Urine Diluite	20 $\mu$ L

Miscelare, trasferire in lettura, attendere 30 secondi di lag-phase e leggere l'Assorbanza iniziale (Abs1) e le Abs dopo 1,2 e 3 minuti esatti. Calcolare i  $\Delta$  Abs/minuto ed effettuare la media aritmetica sia per il calibratore che per ogni campioni in esame.

## CALCOLO

### Siero / Plasma

Fattore di Calcolo (lettura a 405 nm in cuvette di 1 cm di percorso ottico):

$$\text{Amilasi Siero o Plasma (U/L)} = \text{Media } \Delta \text{ Abs/minuto} \times 3591.$$

### Calibratore Multiparametrico:

Ricavare il Fattore di Calcolo specifico dall'uso di un Calibratore Multiparametrico.

$$\text{Fattore Calcolo} = \frac{\text{Concentrazione Calibratore}}{\text{Media } \Delta \text{ Abs/minuto Calibratore}}$$

$$\text{Amilasi Siero o Plasma (U/L)} = \Delta \text{ Abs/minuto} \times \text{Fattore Calcolo}$$

### Urine

Calcolare come per il siero ma moltiplicare ulteriormente il risultato per 2 al fine di tenere conto della diluizione iniziale 1:2 (1+1) applicata a questi campioni.

$$\text{Fattore di conversione: U/L} \times 0,0167 = \mu\text{Kat/L} = \mu\text{mol/sec/L}$$

## CALIBRAZIONE

I risultati dipendono dalla accuratezza della calibrazione, dal corretto settaggio del test sullo strumento, dal giusto rapporto volumetrico reagente/campione e dalla corretta temperatura di analisi.

Usare il Calibratore **MTD Diagnostics:**  
**Chemistry Multicalibrator - REF CAL1010 (10 x 3 mL).**

## CONTROLLO QUALITA'

Sieri di controllo normali e patologici ad attività enzimatica nota, devono essere analizzati regolarmente in ogni seduta analitica.

Utilizzare il materiale di controllo di qualità di MTD Diagnostics:  
**Chemistry Control N - REF CNN1010** 10x5 mL (Livello 1)  
**Chemistry Control P - REF CNP1020** 10x5 mL (Livello 2)

## VALORI DI RIFERIMENTO BIBLIOGRAFICI

Siero: fino a 90 U/L  
Urine: fino a 450 U/L

Ogni laboratorio dovrebbe controllare la validità dei risultati ottenuti rispetto alla popolazione locale e determinare il proprio range dei valori di riferimento. Per ricerche diagnostiche, i risultati dell'amilasi dovrebbero essere considerati insieme alla storia medica del paziente, ad esami clinici ed altre indagini.

## PRESTAZIONI

### PRECISIONE:

Livello basso: Campioni= 20; Media = 85; D.S. = 0,73; CV = 0,86%  
Livello alto: Campioni= 20; Media = 326; D.S. = 2,88; CV = 0,88%

**ACCURATEZZA (CORRELAZIONE):** Una comparazione tra questo metodo (x) ed un metodo certificato del commercio (y) ha dato la seguente correlazione:

$$y = 1.006 x + 4.370 \quad r = 0.99$$

**SENSIBILITA':** 5 U/L

**LINEARITA':** 5 - 1000 U/L

## INTERFERENZE E SPECIFICITA'

Sono stati eseguiti studi per determinare il livello di interferenza tra emoglobina, bilirubina e lipemia:

- Emoglobina: Nessuna interferenza fino a 500 mg/dL.
- Bilirubina: Nessuna interferenza fino a 803 µmol/L (47 mg/dL).
- Lipemia: Nessuna interferenza, misurata come Trigliceridi fino a 11.3 mmol/L (1000 mg/dL).

## NOTE

1. Il reagente può essere utilizzato con differenti strumenti. Ogni applicazione su strumenti dovrebbe essere validata per dimostrare che i risultati coincidano con le caratteristiche e prestazioni del metodo. Si raccomanda di controllare periodicamente lo strumento. Contattare il proprio fornitore per ogni problema relativo alla metodica applicativa.
2. La diagnosi clinica non dovrebbe essere effettuata sui risultati di un singolo test, ma dovrebbe essere integrata con dati clinici e di laboratorio.
3. Non pipettare con la bocca ed utilizzare guanti per evitare il contatto con la pelle al fine di evitare inquinamento (presenza di amilasi nella saliva e nel sudore).

## PRECAUZIONI

Il prodotto R1 contiene POTASSIUM THIOCYANATE – 900 mmol/L - CAS N.: 333-20-0

Xn R20/21/22 (H332 – H302 – H312) - R32 – R52 (P412) – R53 (P413)

R20/21/22 (H332 – H302 – H312): Nocivo per inalazione, contatto con la pelle e ingestione

R32 (EUH031): A contatto con acidi sviluppa un gas molto tossico.

R52 (H412) – R53 (H413): Nocivo per gli organismi acquatici, può provocare effetti negativi a lungo termine per l'ambiente acquatico

Il prodotto non contiene altre sostanze o miscele pericolose secondo la regolamentazione CE n° 1272/2008 (CLP) ovvero le loro concentrazioni sono tali da non essere considerate persistenti, bioaccumulanti o tossiche (PBT). Pertanto, esso non è soggetto alla etichettatura speciale prevista dalla suddetta regolamentazione. Il prodotto è etichettato secondo la direttiva per la marcatura CE (98/79/CE). Sodio Azide inferiore a 0.1%.

Tuttavia, in osservanza alle normali norme di prudenza che ognuno deve osservare allorchè maneggi qualunque sostanza chimica o reagente di laboratorio, in caso di contatto dei Reagenti con l'operatore, occorre applicare i seguenti interventi di primo soccorso:

S26 (P305 – P351 – P338): In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare il medico.

S28 (P302 – P352): In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente ed abbondantemente.

S36/37/39 (P280): Usare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi/la faccia.

S46 (P301 – P310): In caso d'ingestione consultare immediatamente il medico e mostrargli il contenitore o l'etichetta. Se la vittima è cosciente, lavare la bocca con acqua.

S56 (P273): Smaltire questo materiale e relativi contenitori in un punto di raccolta autorizzato per rifiuti pericolosi o speciali.

S63 (P304 – P340): In caso di incidente per inalazione, allontanare l'infortunato dalla zona contaminata e mantenerlo a riposo.

Tutti i campioni in esame, calibratori e controlli devono essere trattati come materiale potenzialmente infettivo capace di trasmettere HIV ed epatiti

PER OGNI ALTRA INDICAZIONE, RICHIEDERE LA SCHEDA DI SICUREZZA AL PRODUTTORE.

## SIMBOLOGIA

	Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79 CE)		
	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti temperatura di conservazione
	Consultare istruzioni per l'uso		Dimensione / numero test
<b>REF</b>	Numero di catalogo		Scadenza
<b>LOT</b>	Numero di lotto		Fabbricante

## BIBLIOGRAFIA

1. Henry, R.J., Chiarori, N., Clin. Chem., 6; 434 (1960).
2. Winn-Deen et al., Clin. Chem. 24-10 (1989).
3. Lorentz, K., Clin. Chem. Clin. Biochem. 17, 499 (1979).
4. Vassault, A. et al. Ann. Biol. Clin., 44, 686, (1986).
5. Young, D.S., et al., Clin. Chem. 21:1D (1975).