

INFORMAZIONE PER L'ORDINE

	Codice	Composizione
OPEN KONELAB INDIKO	REF B75182555	n° 8 flaconi x 5 mL
	REF B75182556	n° 12 flaconi x 20 mL
CHEMILAB	REF B81180181	n° 3 flaconi x 26 mL
	REF B81180182	n° 5 flaconi x 31 mL

DESTINAZIONE D'USO

Determinazione quantitativa in vitro dell'attività della α -Amilasi nelle urine nel siero o plasma umani. I risultati del test devono sempre essere interpretati in relazione al contesto clinico. SOLO PER USO PROFESSIONALE.


SIGNIFICATO CLINICO

Per molti anni i livelli di α -amilasi nel siero e nel plasma hanno fornito un criterio valido per la diagnosi di pancreatite acuta. Le prime tecniche analitiche si basavano sia sulla variazione di assorbimento massimo del complesso formato da amido e iodio nel momento in cui l' α -amilasi degrada l'amido, sia sulla misurazione dell'incremento di gruppi riducenti quando l'amido viene idrolizzato dall' α -amilasi. Questi metodi non sono però così semplici ed efficaci come quelli spettrofotometrici che usano un substrato idoneo. Alcuni metodi sono basati sulla produzione di NADH proporzionalmente all'attività dell' α -amilasi. Un substrato idoneo, come il maltotetraoso, è scomposto dall' α -amilasi fino a glucosio, che può essere misurato enzimaticamente.

PRINCIPIO DEL METODO


Metodo CNPG₃. Il test diretto dell'amilasi prevede l'uso di un substrato cromogenico, il 2-cloro-4-nitrofenolo legato al maltotriosio. L' α -amilasi idrolizza il 2-cloro-4-nitrofenil-a-D-maltotrioside (CNPG₃) per rilasciare 2-cloro-aminofenolo (CNP) e formare 2-cloro-4-nitrofenil-a-D-maltoside (CNPG₂), maltotriosio (G3) e glucosio (G). La velocità di formazione del 2-cloro-4-nitrofenolo può essere rilevata spettrofotometricamente a 405 nm per fornire una misurazione diretta dell'attività dell' α -amilasi nel campione. La reazione non è prontamente inibita da fattori endogeni.

Conservazione e stabilità

 = Temperatura di conservazione 2-8 °C

Conservati a 2 - 8°C evitando la luce diretta, i reattivi sono stabili fino alla data di scadenza riportata sulla etichetta.

Composizione

Reagente:	Conc.	U.M.	 *GHS08
CNPG ₃	2,27	mmol/L	
Cloruro di sodio	300	mmol/L	
Acetato di calcio	5,00	mmol/L	
Potassio solfocianuro	750	mmol/L	
Sodio Azide	< 0,1	%	
MES pH 6,0 ± 0,2	80,0	mmol/L	

***Avvertenza: ATTENZIONE**

Contiene: Potassio Tiocianato (CAS 333-20-0)

H373 - Può causare danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta.

P260 - Non respirare polvere/fumo/gas/nebbia/vapori/aerosol

P314 - In caso di malessere, consultare un medico.

P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in conformità con le disposizioni locali / regionali / nazionali / internazionali.

EUH032 - A contatto con acidi libera gas molto tossici

Materiali inclusi nel kit

Reagente come descritto.

Materiali necessari non inclusi nel kit

Controlli, calibratori e pipette con volume adeguato.

PRECAUZIONI e AVVERTENZE

- Lo smaltimento dei reagenti e dei materiali di scarto deve avvenire in accordo con le disposizioni comunitarie in materia di rifiuti o con le disposizioni nazionali o regionali vigenti.
- I reagenti possono contenere componenti non attivi quali conservanti e detergenti. La concentrazione totale di tali componenti è inferiore ai limiti riportati nel Regolamento 1272/2008 CE e successive modifiche e integrazioni.
- Si raccomanda di maneggiare il reagente secondo le regole della buona pratica di laboratorio e di utilizzare adeguati dispositivi di protezione individuale.
- Non utilizzare il reattivo se risulta visibilmente degradato (es. presenza di corpuscoli).

- Tutti i campioni umani devono essere manipolati ed eliminati come materiali potenzialmente infettivi.
- Il kit deve essere utilizzato solo da personale tecnico qualificato e adeguatamente formato.
- Le diagnosi sono effettuate esclusivamente da personale autorizzato e qualificato.
- Rispettare le direttive nazionali in materia di sicurezza sul lavoro e garanzia della qualità.
- Utilizzare attrezzature conformi alle norme vigenti.

Segnalazione di incidenti gravi

Nel caso si verifichi un incidente grave in relazione all'utilizzo del dispositivo si prega di informare il produttore (tramite il proprio distributore) e l'Autorità Competente dello Stato membro dell'Unione Europea in cui si è verificato l'incidente. Per altre giurisdizioni, le segnalazioni devono essere effettuate in conformità con i requisiti normativi relativi ai singoli stati. La segnalazione di incidenti gravi aiuta a fornire maggiori informazioni relativamente alla sicurezza del dispositivo medico diagnostico.

PROCEDIMENTO

Controllo Qualità

Sieri di controllo a titolo noto contenenti α -amilasi sono commercialmente reperibili per il controllo qualità, correlati di certificati di analisi. Sono disponibili i sieri di controllo normali e patologici Sclavo Diagnostics Clinicontrol N, 5x5 mL, Codice B35181700 e Clinicontrol A, 5x5 mL, codice B35181701. I valori ottenuti devono essere contenuti entro il range di accettabilità.

Calibrazione

Per la calibrazione utilizzare il kit Siero di calibrazione Sclavo cod. B35181702.

Tracciabilità

La tracciabilità dell' α -amilasi è visibile nell'insero della confezione del siero di calibrazione.

CAMPIONE

Tipo di campione e conservazione

Si raccomanda l'uso di siero o di plasma eparinato. Evitare l'uso di citrato o EDTA. Centrifugare e separare il siero o il plasma appena possibile. L' α -amilasi nel siero è stabile se si evitano contaminazioni batteriche per 7 giorni a t.a o a 2-8°C e per 1 anno a -20°C. Nelle urine L' α -amilasi è stabile 2 giorni a T. ambiente, 10 giorni a 2-8°C e 3 settimane a -20°C.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE

Reagente liquido pronto all'uso. Dopo apertura, il reagente è stabile 30 giorni se chiuso dopo ogni operazione e mantenuto ad una temperatura di 2-8°C. Una loro leggera variazione nella colorazione, da lotto a lotto, non influisce sui risultati del test.

Automazione

Il kit può essere utilizzato con tutti gli analizzatori automatici che possano soddisfare le condizioni operative del reagente mantenendo inalterati i rapporti volumetrici R/C. Sono disponibili le applicazioni validate per le strumentazioni Sclavo Konelab® - Indiko® e CHEMILAB. Le applicazioni non approvate da Sclavo Diagnostics non garantiscono le prestazioni del reagente e devono quindi essere approvate sotto la responsabilità dall'utente.

METODO MANUALE

Il kit può essere utilizzato con metodo manuale tramite l'utilizzo di spettrofotometro o fotometro con i parametri sotto riportati:

Condizioni di reazione

Lunghezza d'onda (primaria):	405 nm
Temperatura:	37°C
Reazione	Cinetica (in incremento)

Tecnica

Portare i reattivi alla temperatura di reazione indicata e operare al riparo dalla luce diretta.

	U.M.	Siero di Calibrazione	Campione
Reagente	μ L	1000	1000
Siero di Calibrazione	μ L	25	-
Campione	μ L	-	25

Miscelare con delicatezza quindi incubare alla temperatura di reazione per 60 secondi. Leggere le assorbanze del campione e del siero di calibrazione a 405 nm. Ripetere le letture ogni 30 secondi oppure ogni 60 secondi. Sono raccomandate almeno 3 ripetizioni di lettura nei tempi prescelti. Determinare la media tra i Δ D.O. /min.

I volumi di reazione possono essere variati proporzionalmente senza alterazione dei risultati.



Risultati:

Metodo Manuale

Calcolo della concentrazione dell' α -amilasi:

$$\frac{\Delta \text{D.O. Campione}}{\Delta \text{D.O. Siero di Calibrazione}} \times \text{Conc. Siero di Calibrazione (U/L)} = \text{U/L Amilasi}$$

Automazione

I risultati vengono calcolati automaticamente dall'analizzatore in base alla retta di calibrazione. L'analizzatore esegue automaticamente la calibrazione nel rispetto del protocollo del metodo. La retta di calibrazione viene calcolata automaticamente dai singoli strumenti.

Calcolo dei risultati ottenuti contro fattore di moltiplicazione

$$\Delta \text{D.O./min} \times \text{K-factor}^* = \text{U/L di Amilasi}$$

Spiegazione della formula:

$$\frac{Vt \times 1000}{\text{M.E.C.} \times \text{O.P.} \times Vc} = \text{K-factor}^* \times \Delta \text{D.O./min.} = \text{U/L Amilasi}$$

*K-factor = 3178

dove:

U/L = attività in unità internazionali per litro

Δ D.O./min. = variazione dell'assorbanza per minuto

Vt = volume totale della reazione (μ L)

1000 = conversione della concentrazione al litro

C.M.E. = coeff. micromolare di estinzione del CNP 12,9 cm²/ μ mol a 405 nm

P.O. = percorso ottico (1,0 cm)

Vc = volume del campione nella miscela finale di reazione (μ L)

INTERVALLO DI RIFERIMENTO

- Siero o plasma: 35-140 U/L
- Urine: 17-595 U/L (Maschi) – 19-420 U/L (Femmine)

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri valori normali in funzione della popolazione su cui opera.

CARATTERISTICHE / PRESTAZIONI

Linearità

L' α -amilasi è lineare sino ad una concentrazione di 1000U/L. Se il campione supera un'attività di 1000 U/L diluire il campione con fisiologica nel rapporto di 1:2. (moltiplicare il valore ottenuto per 2, coefficiente di diluizione).

Esattezza

Sieri di controllo commerciali sono stati analizzati con il kit in oggetto seguendo le linee guida del protocollo CLSI. I dati ottenuti sono riportati nella tabella successiva.

Siero – Plasma

Livello	Replicati	Media (U/L)	DS	CV%	Recovery
Basso	5	41,0	0,707	1,38	90,3%
Alto	5	286,8	4,087	1,42	104,3%

Urine

Livello	Replicati	Media (U/L)	DS	CV%	Recovery
Basso	5	40,3	7,24	3,7	122%
Alto	5	196,7	6,27	16,6	93,6%

Interferenze

L'elevata diluizione del campione con il reattivo riduce al minimo le interferenze dovute ai lipidi.

Interferente	Limite
Bilirubina	25 mg/dL
Trigliceridi	600 mg/dL
Emoglobina	500 mg/dL

Precisione

Prove di precisione eseguite con sieri di controllo su analizzatori automatici.

Precisione nella serie (Within-run precision) – Ripetibilità					
Range	U.M.	Media	S.D.	C.V. (%)	No.
Basso	U/L	54,5	2,50	4,58	30
Alto	U/L	1184	52,0	4,40	30
Precisione totale (Within-lab precision)					
Range	U.M.	Media	S.D.	C.V. (%)	No.
Basso	U/L	50,7	3,09	6,10	20
Alto	U/L	1125	47,2	4,20	20

Limite di sensibilità

Il limite di Sensibilità alle condizioni stabilite per questo test la più bassa concentrazione rilevabile è, a 37°C, di 12 U/L di attività α -amilasica

Confronto tra metodi

Il metodo è stato confrontato con altro metodo disponibile commercialmente, analizzando 111 sieri umani. I dati di correlazione tra i due metodi sono riportati nella tabella sottostante.

Parametro	Stima
Intercetta	-3.6
Pendenza	0.956
Coeff. Correlazione (R)	0.998

Simboli utilizzati in IFU e Packaging	
Dispositivo medico diagnostico in vitro	Fabbricante
Numero di catalogo	Istruzioni per l'uso
Numero del lotto	Temperatura di conservazione
Data di scadenza	

BIBLIOGRAFIA

1. **Ranson, J.H.C** (1979) Acute pancreatitis. Curr. Probl. Surg., 16:1-84.
2. **Salt, W.B., Schenker, S.**, (1976) Amylase- its clinical significance: a review of the literature. Medicine, 55:269-289.
3. **Stefanini, P., Ermini, M., Carboni, M.**, (1965) Diagnosis and management of acute pancreatitis. J. Am. Surg., 110:866-75.
4. **Kaufman, R.A. and Tietz, N.W.**, (1980) Recent advances in measurement of amylase activity – a comparative study. Clin. Chem. 26:846 - 53.
5. **Blair, H.E.**, U.S. Patent No. 4,649,108.
6. **Gubern G, Canalias F, Gella FJ, Colinet E, Profilis C, Calam DH, Ceriotti F, Dufaux J, Hadjivassiliou AG, Lessinger JM, Lorentz K, Vassault A.** (1996) Production and certification of an enzyme reference material for pancreatic alpha-amylase (CRM 476). Clin Chim Acta; 251(2):145-62.
7. **Chavez, R.G.**, et al., U.S. Patent No. 4,963,479.
8. **NCCLS document “Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Skin Puncture”**, (1974) 2nd Ed., Harper & Row.
9. **Demetriou, J.**, et al., “Clinical Chemistry: Principles and Techniques”, 2nd Ed., Harper & Row (1974)
10. **Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)**. User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline – Second Edition. EP15-A2.
11. **Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)**. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurements Methods; Approved Guideline – Second Edition. EP05-A2.
12. **Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)**. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline – Third Edition. EP09-A3.
13. **Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)**. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures, 2nd Edition – EP17
14. **Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)**. Interference Testing in Clinical Chemistry, – Third Edition. - EP07.
15. **Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)**. Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures, 2nd Edition - EP06.

REVISIONE	DATA	MOTIVO DELLA REVISIONE
Rev.A	01/2023	Nuova emissione per adeguamento IVDR Regolamento (UE) 2017/746

