

AMYLASE MR

REF 1107005

5 x 20 mL

CONTENU

Réactif R1. 5 x 20 mL

Uniquement pour diagnostic *in vitro*

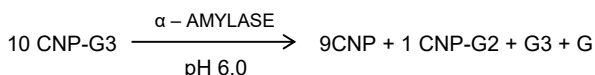
α -AMYLASE MR

Méthode colorimétrique enzymatique

CINETIQUE

PRINCIPE

Cette méthode est basée sur l'activité catalytique de α -amylase qui à pH 6,0 permet l'hydrolyse du substrat 2-chloro-p-nitrophenyl- α -D-maltotriose (CNP-G3) en formant le 2-chloro-p-nitrophenol (CNP) et des glycosides libres^{1,2}. La réaction cinétiquement mesurée à 405 nm par l'intensité de la coloration du CNP produit est proportionnelle à l'activité de α – Amylase de l'échantillon.



Ce test a été formulé suivant la méthode standardisée décrite par IFCC. Clin Chem Lab Med 2006 ; 44(9) : 1146-1155.

COMPOSITION DES REACTIFS

R1

Mono réactif. Tampon MES 50 mmol/l, pH 6,0, Acétate de calcium 5 mmol/L, Chlorure de sodium 300 mmol/L, Thiocyanate de sodium 450 mmol/L, CNP-G 2,25 mmol/L.

CONSERVATION ET STABILITE

 Conserver à 2-8°C.

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption mentionnée sur l'étiquette. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de cette date de péremption. Conserver les flacons hermétiquement fermés à l'abri de la lumière et prévenir les contaminations pendant l'usage. Eviter la contamination en refermant immédiatement le flacon après utilisation (Voir Notes).

Se débarrasser des réactifs s'il apparaît des signes de détérioration:

- Présence de particules et d'une turbidité.
- Absorbance du blanc réactif (A) à 405 nm < 0,250 dans une cuve de 1 cm d'épaisseur.

PREPARATION DES REACTIFS

Le Monoréactif est prêt à l'emploi.

ECHANTILLONS

Sérum ou plasma sur héparine et urines.

α – Amylase dans le sérum ou le plasma est stable pendant 30 jours à 2-8°C. Les échantillons d'urines doivent être clairs et sans précipitants. Contrôler le pH. Les urines à pH < 5 réduisent la sensibilité de l'enzyme. α – Amylase dans les urines est stable pendant 10 jours à 2 – 8°C.

INTERFERENCES

- La lipémie (intraipides 20 g/L) n'interfère pas.
- La bilirubine (40 mg/dL) n'interfère pas.
- L'hémoglobine (16 g/L) n'interfère pas.
- D'autres médicaments et substances peuvent interférer.^{3,5}

MATERIEL AUXILIAIRE

- Photomètre ou colorimètre avec compartiment de mesure thermostable à 37°C, capable de faire des lectures à 405 nm.
- Chronomètre, enregistreur graphique ou imprimant.
- Cuvettes de 1-cm de trajet optique.
- Pipettes pour mesure et distribution des réactifs et échantillons.

PROCEDURE

1. Préincuber le réactif de travail, les échantillons et contrôles à la température de réaction.
2. Ajuster le zéro du photomètre avec de l'eau distillée.
3. Pipeter dans des cuves:

Température de réaction	37°C	
Mono réactif R1.	1,0 mL	1,0 mL
Sérum / Plasma	20 μ L	-
Urine	-	10 μ L

4. Mélanger doucement par retournements. Mettre la cuve dans le compartiment de lecture de l'appareil et chronométrer.
5. Incuber pendant 1 minute, et lire l'absorbance initiale.
6. Répéter les lectures exactement à 1,2 et 3 minutes.
7. Calculer la différence entre les absorbances.
8. Calculer la moyenne des différences d'absorbances et en déduire la variation moyenne par minute ($\Delta A/\text{min}$).

CALCULS

Sérum, plasma

$$U/L = \Delta A / \text{min} \times 3591$$

Urine

$$U/L = \Delta A / \text{min} \times 7113$$

$$\epsilon_{405}^{\text{CNP}} = 14,2 \text{ (Toyobo Biochimique)}$$

Les échantillons ayant une $\Delta A/\text{min}$ supérieure à 0,500 à 405 nm doivent être dilués dans la proportion de 1:10 avec le sérum physiologique et puis refaire l'analyse. Multiplier les résultats obtenus par 10.

Pour exprimer les résultats en unités SI appliquer:

$$U/L \times 0,01667 = \mu\text{kat/L}$$



VALEURS DE REFERENCE⁴

Sérum, plasma

< 86 U/L (1,43 µkat/L)

Urine

< 470 U/L (7,83 µkat/L)

Il est recommandé que chaque laboratoire établisse sa propre plage de valeurs de référence.

CONTROLE DE QUALITE

Pour assurer un contrôle de qualité (QC) approprié, chaque test doit inclure un ensemble de contrôles (normal et anormal), traités comme ayant des valeurs inconnues.

REF 1980005 HUMAN MULTISERA NORMAL
Évalué comme niveau normal de l'α-amylase.

REF 1985005 HUMAN MULTISERA ABNORMAL
Évalué comme niveau élevé de l'α-amylase.

Si les valeurs sont en dehors de la plage définie, vérifiez l'instrument, les réactifs et la procédure. Chaque laboratoire doit établir ses propres plans de contrôle de qualité interne et les mesures correctives, dans le cas où les résultats des contrôles sont hors des tolérances acceptables.

INTERPRETATION CLINIQUE

Le test de détermination de l'activité enzymatique de l'amylase dans le sérum et les urines est principalement utilisé dans le diagnostic des maladies du pancréas et l'investigation de la fonction pancréatique.

L'amylase est essentiellement retrouvée dans la salive et les tissus pancréatiques. Normalement le sang contient des petites quantités de l'amylase, mais dans les divers troubles de la fonction pancréatique des grandes quantités d'amylase sont sécrétées dans le sang par le pancréas.

L'activité enzymatique de l'amylase dans le sérum augmente rapidement au cours d'un trouble fonctionnel et retourne peu après à une situation normale.

Des valeurs élevées de l'activité enzymatique de l'amylase sont associées à la pancréatite aiguë, à l'obstruction du canal pancréatique, aux maladies intra-abdominales, aux oreillons et parotidite bactérienne.

Une quantité significative de l'amylase sérique est excrétée dans les urines, ce qui traduit qu'une élévation de l'activité enzymatique de l'amylase sérique reflète celle des urines. L'amylase urinaire apparaît habituellement moins élevée, des valeurs élevées de cette enzyme dans les urines persistent pendant une longue période.⁴

CARACTERISTIQUES ANALYTIQUES

- **Limite de détection** : 1,39 U/L

- **Linéarité** : Jusqu'à 1600 U/L

- **Précision** :

U/L	Intra-série		Inter-série	
Moyenne	85,3	326,4	85,3	326,4
S.D.	0,73	2,88	1,01	4,17
CV%	0,86	0,88	0,88	1,28
N	10	10	10	10

- **Sensibilité** : 0,300 A/min / U/L amylase.

- **Corrélation** : Ce test (y) a été comparé avec une méthode commerciale similaire (x). Les résultats suivants ont été obtenus:

$$N = 52 \quad r = 0,99 \quad y = 1,006x + 4,370$$

Ces caractéristiques analytiques ont été obtenues en utilisant des équipements automatiques. Les résultats peuvent varier en fonction de l'équipement.

NOTES

- Ne pipeter pas avec la bouche, utiliser les gants et éviter le contact avec la peau. La salive et la sueur contiennent toutes les deux de l'amylase.
- Cette méthode peut être utilisée avec n'importe quel appareil. Toute application sur un appareil devrait être validée par une démonstration de la concordance des résultats avec les caractéristiques analytiques de la méthode. Il est recommandé de valider périodiquement l'appareil. Veuillez contacter le distributeur pour toutes questions relatives à l'application de la méthode.
- Le diagnostic clinique ne devrait pas se limiter sur les seuls résultats du test, mais intégrer corrélativement les données cliniques et de laboratoire.

BIBLIOGRAPHIE

1. Winn –Deen, E.S., David, Sigler, G, and Chavez, R. Clin. Chem. 34: 2005 (1988).
2. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC). Clin. Chem. Lab. Med. 36: 185 (1998).
3. Young, D.S. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 4th Edition. AACC Press (1995).
4. Tietz. Textbook of Clinical Chemistry, 2nd Edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994.
5. Fiedman and Young. Effects of disease on Clinical Laboratory Tests. 4th ed. AACC Press 2001.

