

ACB- α -Amylase

Cinétique/Temps fixe

REF AMYS003

R1 6 x 12 ml

R2 1 x 19 ml

Utilisation

Réactif pour la détermination quantitative de l'activité de l'alpha amylase dans le sérum, le plasma et les urines humains.

Rappel

L'amylase (ou Alpha amylase) est une enzyme qui se trouve principalement dans le suc pancréatique et la salive. son rôle principal est l'hydrolyse de l'amidon présent dans l'alimentation.

La détermination du taux d'amylase est utile dans le diagnostic et le traitement des maladies du pancréas et des parotides.

Des taux sériques élevés sont associés à une pancréatite aiguë et à d'autres troubles pancréatiques ainsi qu'aux oreillons et à la parotidite bactérienne.

Principe de la méthode

L'alpha amylase catalyse l'hydrolyse du 2-chloro-4-nitrophényl-1-galactopyranosyl-maltoside (GALG2-CNP) en polymères de glucose et p-nitrophényl oligosaccharide à chaîne courte, produisant du 2-chloro-4-nitrophénol (CNP). L'absorbance est mesurée par spectrophotométrie à 405 nm et est directement proportionnelle à l'activité catalytique de l'alpha amylase.

Composition

R1 : Tampon

Tampon Good (pH 6.0)	50 mmol/L
Chlorure de sodium	300 mmol/L
Chlorure de calcium	5 mmol/L
EDTA	0.2 mmol/L

R2 : Substrat

Tampon Good (pH 6.0)	50 mmol/L
Thiocyanate de potassium	140 mmol/L
GALG2-CNP	10.6 mmol/L

R22: nocif en cas d'ingestion

S36: Porter des vêtements de protection appropriés.

Précautions et mise en garde

Ne pas ingérer ou inhaler, éviter tout contact avec les yeux, la peau et les muqueuses.

La salive et la peau contiennent de l'alpha amylase : NE JAMAIS PIPETER AVEC LA BOUCHE, utiliser des gants de protection.

Préparation, conservation et stabilité

Les réactifs sont fournis prêts à l'emploi.

Les réactifs sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée sur les étiquettes lorsqu'ils sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C.

Après ouverture, les réactifs sont stables pendant 2 mois à la température spécifiée.

Détérioration

Tout changement d'aspect ou présence de trouble est signe de détérioration.

Ne pas utiliser le réactif si l'absorbance est supérieure à 1.0 AU à 405 nm.

Symboles sur l'emballage du produit

 IVD	Pour diagnostic in vitro	 Températures limites
 LOT	Numéro de lot	 Date d'expiration
 REF	Référence	 Fabriqué par
	ATTENTION. Lire les instructions d'utilisation	 (Xi) - Irritant

Prélèvement, conservation et stabilité des échantillons

Utiliser du sérum, du plasma hépariné ou des urines de 24 heures.

L'activité de l'alpha amylase dans les échantillons de sérum ou de plasma est stable pendant 7 jours à 2-8°C ou 1 mois à -20°C.

Procédure 1 (Méthode cinétique)

Paramètres du système

Longueur d'onde	405 nm
Cuvette	1 cm
Type de réaction	Cinétique
Sens de réaction	Croissant
Température	37°C
Point zéro (Ajustment)	Contre l'air

1. Pipeter dans des tubes à essai :

R1	800 μ l
R2	200 μ l
Echantillon	25 μ l

2. Mélanger et incuber pendant 1 minute.

Lire l'absorbance initiale après 1 minute. Démarrer le chronomètre simultanément. Relire l'absorbance après 1, 2 et 3 minutes.

Déterminer la variation d'absorbance moyenne par minute ($\Delta A/\text{min}$).

Calcul

Activité de l'alpha Amylase (U/L) = $\Delta A/\text{min} \times 3060$

Procédure 2 (Méthode temps fixe)

Paramètres du système

Longueur d'onde	405 nm
Cuvette	1 cm
Type de réaction	Temps fixe
Sens de réaction	Croissant
Température	37°C
Point zéro (Ajustment)	Contre l'air

1. Pipeter dans des tubes à essai :

R1	800 μ l
R2	200 μ l
Echantillon	25 μ l

2. Bien mélanger et incuber pendant 1 minute.

Lire l'absorbance A_1 après 1 minute puis l'absorbance A_2 après 4 minutes.

Calcul

$\Delta A = A_2 - A_1$

Activité de l'alpha Amylase (U/L) = $\Delta A \times 765$

Performance de la méthode

Précision

N (20)	Répétabilité intra-série		
	Moyenne (U/L)	SD	CV %
Niveau 1	70.4	0.186	0.021
Niveau 2	183	0.219	0.011

N (20)	Reproductibilité inter-série		
	Moyenne (U/L)	SD	CV %
Niveau 1	70.4	0.181	0.022
Niveau 2	183	0.234	0.012

Sensibilité

Lorsqu'il est utilisé tel que recommandé, le seuil de détection du réactif est de 2 U/L.

Linéarité

La réaction est linéaire jusqu'à une concentration en amylase de 1500 U/L.

Intervalle analytique

2 - 1500 U/L.

Interférences

Aucune interférence significative jusqu'à des taux de:

Hémoglobine	500 mg/dl
Bilirubine libre	20 mg/dl
Bilirubine conjuguée	20 mg/dl
Fluorure de sodium (NaF)	500 mg/dl
Acide ascorbique	500 mg/dl
Glucose	5 g/dl
Maltose	5 g/dl

Valeurs de référence

Sérum ou plasma	Jusqu'à 100 U/L
Urines aléatoires	Jusqu'à 450 U/L
Urines de 24h	Jusqu'à 410 U/24h

Traitement des déchets

Ce produit est fabriqué pour être utilisé par des professionnels dans les laboratoires. Consulter la réglementation locale pour la procédure de traitement des déchets.

S56 : Eliminer ce matériel et son emballage dans un conteneur de collecte de déchets dangereux ou spéciaux.

S57 : Utiliser un conteneur adapté afin d'éviter la contamination de l'environnement.

S61 : Eviter l'élimination dans la nature ; se référer aux instructions de fiche de sécurité.

Bibliographie

1. Henry, R.J., Chiamori, N., Clin. Chem., 6;434, (1961).
2. Winn-Deen et Al., Clin. Chem. 24-10 (1989).
3. Lorentz, K., Clin. Chem. Clin. Biochem. 17,499 (1979).