Pancreatic amylase CC* FS** (Amylase pancréatique CC* FS**)

Présentation

Référence	Composition du kit			
1 0551 99 10 021	R1 5 x 20 mL	+	R2	1 x 25 mL
1 0551 99 10 023	R1 1 x 800 mL	+	R2	1 x 200 mL
1 0551 99 10 930	R1 4 x 20 mL	+	R2	2 x 10 mL

Emploi Prévu

Réactif de diagnostic in vitro pour la détermination quantitative de l'activité de l'amylase pancréatique dans le sérum humain, le plasma recueilli sur héparine ou l'urine sur systèmes photométriques automatisés.

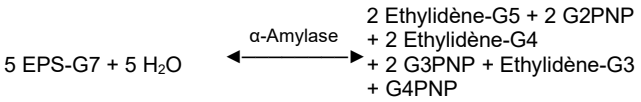
Intérêt Clinique

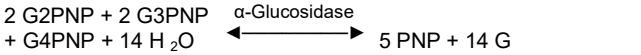
Les α-amylases sont des enzymes hydrolytiques qui décomposent de façon aléatoire les carbohydrates complexes liés par des liaisons α-1,4 en résidus disaccharides [1,2]. Les α-amylases présentes dans le corps humain proviennent de différents organes : l'amylase pancréatique est produite par le pancréas et excrétée dans le tractus intestinal [1,2] ; l'amylase salivaire est synthétisée dans les glandes salivaires et sécrétée dans la salive [1]. Le sérum et l'urine d'individus sains contiennent des isoenzymes provenant du pancréas et de la salive à des concentrations catalytiques presque comparables [2]. La mesure de l'activité α-amylase dans le sérum est utilisée pour diagnostiquer les maladies pancréatiques et pour surveiller la fonction pancréatique [1]. Une activité α-amylase élevée peut être caractéristique d'une pancréatite aiguë, d'une récidive de pancréatite chronique et d'une pancréatite après une cholédochopancréatographie rétrograde endoscopique (CPRE) [2]. Dans les inflammations aiguës et récurrentes, l'activité de l'amylase sérique augmente dans les 5 à 10 heures suivant l'apparition de la douleur abdominale [2]. La spécificité de l'α-amylase pour les troubles pancréatiques n'est pas très élevée, car des taux élevés sont également mesurés dans diverses maladies non pancréatiques, par exemple des lésions des glandes salivaires [2]. Pour mesurer l'amylase pancréatique, l'amylase salivaire est bloquée, de sorte que seule l'activité de l'isoenzyme pancréatique est déterminée. Néanmoins, il est recommandé de mesurer également la lipase afin de confirmer une pancréatite aiguë [1,2].

Méthode

Test enzymatique colorimétrique. Le substrat 4,6-éthylidène-(G7)-p-nitrophényl-(G1)-α-D-maltoheptaoside (EPS-G7) est scindé par les α-amylases en différents fragments.

Ils sont ensuite hydrolysés par l'α-glucosidase en glucose et p-nitrophénol. L'iso enzyme salivaire étant inhibée de façon sélective par la combinaison de 2 anticorps monoclonaux pendant la phase de pré incubation, l'augmentation d'absorbance représente l'activité de l'amylase pancréatique de l'échantillon [3-5].





(PNP = p-Nitrophénol, G = Glucose)

Une unité d'amylase correspond à la quantité d'enzyme qui clive 5,0 µmol d'éthylidène-(G7)-p-nitrophényl-(G1)-α-D-maltoheptaoside (EPS-G7) par minute dans des conditions spécifiques à l'enzyme.

Réactifs

Composants et Concentrations

R1 :	Tampon de Good	pH 7,15	0,1 mol/L
	NaCl		62,5 mmol/L
	$MgCl_2$		12,5 mmol/L
	α-Glucosidase		≥ 2,5 kU/L
	Anticorps monoclonaux contre l'amylase salivaire (souris)		≥ 31 mg/L
R2 :	Tampon de Good	pH 7,15	0,1 mol/L
	EPS-G7		8,5 mmol/L

Conservation et Stabilité

Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur le coffret, conservés entre +2 °C et +8 °C en évitant toute contamination. Ne pas congeler et conserver à l'abri de la lumière.

La stabilité du réactif en flacon ouvert est de 18 mois jusqu'à la date de péremption.

Avertissements et Précautions d'Emploi

1. Les réactifs contiennent de l'azide de sodium (0,95 g/L) comme conservateur. Ne pas avaler ! Éviter le contact avec la peau et les muqueuses.
2. Le réactif 1 contient du matériel d'origine biologique. Manier le produit comme potentiellement infectieux selon les précautions universelles et de bonne pratique de laboratoire.
3. Dans de très rares cas, des spécimens de patients souffrant de gammapathie peuvent produire des valeurs fausses [6].
4. L'activité résiduelle de l'α-amylase salivaire est d'au maximum 3 %. Dans de très rares cas, des activités très élevées d'α-Amylase salivaire peuvent conduire à l'obtention de valeurs élevées d'α-amylase pancréatique. Cependant, la salive et la peau contenant de l'α-amylase, ne jamais pipeter les réactifs avec la bouche et éviter le contact avec la peau.
5. En cas de dysfonctionnement du produit ou d'altération de son aspect susceptible d'affecter ses performances, contacter le fabricant.
6. Signaler tout incident grave lié au produit au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre où se situe l'utilisateur et/ou le patient.
7. Merci de vous référer aux fiches de sécurité (FDS) et prendre les précautions nécessaires pour l'utilisation de réactifs de laboratoire. Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être exploités en fonction de l'historique médical du patient, des examens cliniques ainsi que des résultats obtenus sur d'autres paramètres.
8. Uniquement à usage professionnel.

Gestion des Déchets

Se référer aux exigences légales locales en termes de dispositions relatives à l'élimination des produits chimiques, conformément à la FDS correspondante, pour décider de leur élimination en toute sécurité.

Avertissement : Manipuler les déchets comme des matières potentiellement dangereuses au plan biologique. Éliminer les déchets conformément aux instructions et procédures de laboratoire acceptées.

Préparation du Réactif

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

Matériels Nécessaires

Équipement général de laboratoire

Spécimen

Sérum humain, plasma recueilli sur héparine ou urine

N'utilisez que des tubes ou des récipients adaptés pour le prélèvement et la préparation des échantillons.

Lorsque vous utilisez des tubes primaires, suivez les instructions du fabricant.

Stabilité dans le sérum/plasma [7] :

7 jours	de	+20 °C à +25 °C
7 jours	de	+4 °C à +8 °C
1 an	à	-20 °C

Stabilité dans l'urine [7] :

2 jours	de	+20 °C à +25 °C
10 jours	de	+4 °C à +8 °C
3 semaines	à	-20 °C

L'α-amylase pancréatique est instable dans l'urine acide. Effectuer le dosage immédiatement ou ajuster le pH à une valeur alcaline avant le stockage [8].

Une seule congélation. Éliminer les échantillons contaminés.

Mode Opératoire

Configuration de base sur BioMajesty® JCA-BM6010/C

Longueur d'onde	410/694 nm
Température	+37 °C
Mesure	Cinétique
Échantillon/Calibrant	2,0 µL
Réactif 1	80 µL
Réactif 2	20 µL
Ajout réactif 2	Cycle 19 (286 s)
Absorbance	Cycle 32/42 (464 s/600 s)
Calibration	Linéaire

Calcul

Avec Calibrant

$$\text{Amylase pancréatique [U/L]} = \frac{\Delta A/\text{min Échantillon}}{\Delta A/\text{min Cal.}} \times \text{Conc. Cal. [U/L]}$$

Facteur de Conversion

Amylase pancréatique [U/L] x 0,0167 = Amylase pancréatique [µkat/L]

Calibrants et Contrôles

TruCal U de DiaSys est recommandé pour la calibration. Les valeurs du calibrant TruCal U sont établies par rapport au coefficient d'extinction molaire. Utiliser TruLab N et P de DiaSys pour le contrôle de qualité interne. Toutes les valeurs titrées des contrôles sont traçables au système de réactif/calibrant de DiaSys. Le contrôle de qualité doit être effectué après la calibration. Les intervalles et les limites de contrôle doivent être adaptés aux exigences individuelles de chaque laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les intervalles définis. Suivre les exigences légales et les directives pertinentes. Chaque laboratoire établira la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites de confiance.

	Référence	Présentation
TruCal U	5 9100 99 10 063	20 x 3 mL
	5 9100 99 10 064	6 x 3 mL
TruLab N	5 9000 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9000 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9050 99 10 061	6 x 5 mL

Performances

Données évaluées sur BioMajesty® JCA-BM6010/C

Sérum/Plasma

Domaine de mesure jusqu'à 1740 U/L. La linéarité est donnée à ± 5 %.
Au-delà de cet intervalle, diluer le spécimen 1 + 10 avec du NaCl (9 g/L) et multiplier le résultat par 11.

Limite de détection***	2 U/L

Interférence par	Interférences ≤ 10 % jusqu'à	Concentration de l'analyte [U/L]
Acide ascorbique	30 mg/dL	23,5
Bilirubine (conjuguée)	54 mg/dL	24,0
Bilirubine (non conjuguée)	54 mg/dL	23,7
Hémolyse	600 mg/dL	37,1
Lipémie (triglycérides)	2000 mg/dL	25,3

Pour plus d'information au sujet des interférences, voir Young DS [9,10].

Précision			
Répétabilité (n=20)	**Échantillon 1**	**Échantillon 2**	**Échantillon 3**
Moyenne [U/L]	26,3	115	252
CV [%]	0,897	0,645	0.609
Inter série (n=20)	**Échantillon 1**	**Échantillon 2**	**Échantillon 3**
Moyenne [U/L]	44,9	142	247
CV [%]	1,40	0,859	0,591

Comparaison de méthodes (n=135)	
Test x	Amylase pancréatique CC FS de DiaSys (Hitachi 917)
Test y	Amylase pancréatique CC FS de DiaSys (BioMajesty® JCA-BM6010/C)
Pente	1,01
Ordonnée à l'origine	0,958 U/L
Coefficient de corrélation	0,999

Urine

Domaine de mesure jusqu'à 3480 U/L. La linéarité est donnée à ± 5 %.
Au-delà de cet intervalle, diluer le spécimen 1 + 10 avec du NaCl (9 g/L) et multiplier le résultat par 11.

Limite de détection***	4 U/L

Précision			
Répétabilité (n=20)	**Échantillon 1**	**Échantillon 2**	**Échantillon 3**
Moyenne [U/L]	43,6	124	80,6
CV [%]	0,806	1,53	0,373
Inter série (n=20)	**Échantillon 1**	**Échantillon 2**	**Échantillon 3**
Moyenne [U/L]	43,9	125	81,1
CV [%]	1,41	1,95	1,58

Comparaison de méthodes (n=100)	
Test x	Amylase pancréatique CC FS de DiaSys (Hitachi 917)
Test y	Amylase pancréatique CC FS de DiaSys (BioMajesty® JCA-BM6010/C)
Pente	1,03
Ordonnée à l'origine	-2,99 U/L
Coefficient de corrélation	0,999

*** Activité mesurable la plus basse qui peut être distinguée de zéro ; Moyenne + 3 SD (n = 20) d'un spécimen exempt d'analyte.

Valeurs Usuelles [11]

	Femmes	Hommes
Sérum/Plasma	< 53 U/L	< 53 U/L
	< 0,88 µkat/L	< 0,88 µkat/L
Urine	< 53 U/L	< 53 U/L
	< 0,88 µkat/L	< 0,88 µkat/L

Chaque laboratoire devrait vérifier si les valeurs usuelles sont transmissibles à sa propre population patiente et déterminer ses propres valeurs de référence si besoin.

Références Bibliographiques

1. Moss DW, Henderson AR. Digestive enzymes of pancreatic origin. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company;1999. p.689-98.
2. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics [Internet]; 2020 [cited 2023 Jun 19]. Available from: https://www.clinical-laboratory-diagnostics-2020.com/
3. Gerber M, Naujoks K, Lenz H, Wulff K. A monoclonal antibody that specifically inhibits human salivary alphaamylase.Clin Chem 1987; 33: 1158-62.
4. Kruse-Jarres JD, Kaiser C, Hafkenscheid JC, Hohenwallner W, Stein W., Bohner J et al. Evaluation of a new alpha-amylase assay using 4,6-ethylidene (G7)-1-4-nitrophenyl-(G1)-alpha,D-maltoheptaoside as substrate. J Clin Chem Biochem 1989; 27: 103-13.
5. Tietz NW, Burlina A, Gerhardt W, Junge W, Maffertheimer P, Mural T et al. Multicenter evaluation of a specific pancreatic isoamylase assay based on a double monoclonal-antibody technique. Clin Chem 1988; 34: 2096-102.

6. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: Mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007; 45()): 1240-1243.
7. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001. p. 16-17, 50-51.
8. Tietz NW, ed. Clinical Guide to Laboratory Tests. 3rs ed. Philadelphia. Pa: WB Saunders Company; 1995: 46-51.
9. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Assocation for Clinical Chemistry Press 2000.
10. Young DS. Effects on Clinical Laboratory Tests - Drugs Disease, Herbs & Natural Products, https://clinfx.wiley.com/aaccweb/aacc/, accessed in February 2024. Published by AACC Press and John Wiley and Sons, Inc.
11. Junge W, Wortmann W, Wilke B, Waldenstroem J et al. Development and evaluation of assays for determination of total and pancreatic amylase at 37°C according to the principle recommended by the IFCC. Clin Biochem 2001; 34: 607-15.

Les ajouts et/ou modifications au document sont surlignés en gris. Les suppressions sont communiquées par les infos clients en indiquant le numéro d'édition de la notice du coffret/de l'instruction d'utilisation.

IVD CE

DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim
Allemagne
www.diasys-diagnostics.com

* Complete Color = Coloration Complète

** Fluid Stable = Liquide & Stable