

AMILASA LÍQUIDA

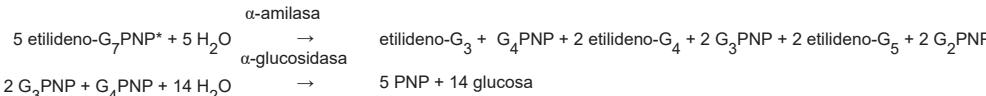
MÉTODO IFCC

Para la determinación "in vitro" de la α-amilasa

PRINCIPIO

El sustrato, un oligosacárido de maltosa, está unido por uno de sus extremos al grupo cromógeno, mientras que por el otro está bloqueado por un grupo etilideno. La degradación del sustrato se inicia al adicionar la α-amilasa de la muestra y los oligosacáridos de cadena más corta producidos interaccionan con el enzima α-glucosidasa con lo que se libera el grupo p-nitrofenol.

El aumento de Abs a 405 nm es proporcional a la actividad α-amilasa de la muestra.



* 4,6-etilideno(G₇)-p-nitrofenil(G₁)-α,D maltoheptaosido.

* PNP = p-nitrofenol

UTILIDAD DIAGNÓSTICA

La determinación de la actividad amilásica en suero u orina se utiliza para recabar datos para el diagnóstico de pancreatitis crónica o aguda. El 80% de pacientes con pancreatitis crónica presenta valores elevados de amilasa durante las primeras 24 horas.

También se encuentran valores elevados de amilasa en casos de parotiditis, infarto intestinal, alteraciones del tracto biliar, cetoacidosis diabética o peritonitis.

Algunos tumores de pulmón y ovario, pueden dar lugar, asimismo, a elevación del nivel de amilasa. Se detectan valores elevados en enfermos alcoholíticos crónicos.

Una única prueba de laboratorio no permite establecer un diagnóstico. Los resultados se han de evaluar en el contexto de todos los datos clínicos y de laboratorio obtenidos.

REACTIVOS

Kit 1 x 60 mL. (Ref. 99 60 66). Contiene:

A. 1 x 50 mL Tampón / Enzimas
B. 1 x 10 mL Tampón / Substrato

Ref. 99 60 88
Ref. 99 60 90

Kit 1 x 120 mL. (Ref. 99 26 40). Contiene:

A. 1 x 100 mL Tampón / Enzimas
B. 1 x 20 mL Tampón / Substrato

Ref. 99 26 45
Ref. 99 26 50

PREPARACIÓN DEL REACTIVO DE TRABAJO

Los reactivos A y B, están listos para su uso. En caso de que se quiera trabajar como Monorreactivo: mezclar las cantidades deseadas, pero manteniendo la proporción 5 partes de A (Tampón / Enzimas) + 1 parte de B (Tampón / Sustrato).

COMPOSICIÓN DEL REACTIVO DE TRABAJO

Las concentraciones en la disolución reactiva son:

Tampón Hepes pH 7,1	65 mM
NaCl	95 mM
MgCl ₂	15 mM
Etilideno-G ₇ PNP	17 mM
α-glucosidasa	≥ 4500 U/L
Estabilizantes y conservantes	

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Los componentes del kit almacenados en refrigerador a 2-8°C, son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Una vez mezclados los componentes A y B dicha disolución monorreactiva es estable 1 semana a 2-8°C y 3 días a temperatura ambiente (≤25°C). Proteger de la luz.

Indicaciones de alteración de los reactivos:

Presencia de partículas o turbidez. Blanco del reactivo de trabajo > 0,300.

Un ligero color amarillento de la disolución reactiva no influye en la determinación.

MATERIAL NECESARIO NO SUMISTRADO

Material común de laboratorio.

Espectrofotómetro, analizador automático o fotómetro termostatizado a 37°C. Cubeta de 1cm de paso de luz.

PRECAUCIONES

Los reactivos contienen azida sódica al 0,09%, manipular con precaución.

Las indicaciones de seguridad se encuentran en la etiqueta de los productos. El calibrador debe considerarse como una muestra humana y por lo tanto potencialmente infeccioso. Utilizar protección adecuada. Se aconseja consultar la ficha de datos de seguridad antes de la manipulación del reactivo. La eliminación de residuos debe hacerse según la normativa local vigente.

MUESTRA

Suero, plasma heparinizado u orina. Utilizar muestras exentas de hemólisis.

En ausencia de contaminación bacteriana, la actividad α-amilásica en suero o plasma se mantiene en refrigerador a 2-8°C, durante 6 días. En orina dicha actividad se mantiene 10 días a 2-8°C y 2 días a temp. ambiente (≤ 25°C).

CONTROL DE CALIDAD

Es recomendable la inclusión de sueros control, Seriscann Normal (Ref. 99 41 48) y Seriscann Anormal (Ref. 99 46 85) en cada proceso de medida para verificar los resultados.

Se aconseja que cada laboratorio establezca su propio programa de control de calidad y los procedimientos de corrección de las desviaciones detectadas.

PROCEDIMIENTO

Llevar el reactivo de trabajo y el instrumento a 37°C. Pipetear en la cubeta de reacción.

	Monorreactivo mL	Birreactivo mL
Reactivos de trabajo (5A + 1 B)	3,0	---
Reactivos A	---	2,5
Muestra	0,10	0,10
Reactivos B	---	0,50

Mezclar e incubar durante 3 min.

A los 3 minutos poner el cronómetro en marcha y anotar la absorbancia.

Repetir las lecturas exactamente después de 1, 2 y 3 minutos.

Determinar la ΔAbs/minuto promedio de las tres lecturas.

Lectura

Longitud de onda: 405 nm (400 – 420)

Blanco: medida frente a aire

Cubeta termostatizada, 1 cm de paso de luz.

Técnica semimicro

Puede llevarse a cabo con la mitad de los volúmenes indicados anteriormente.

CÁLCULOS

Se utiliza la fórmula indicada para obtener el factor para calcular las U/L:

$$\Delta\text{Abs}/\text{min} \times \frac{Vt \times 10^6}{C \times l \times Vs} = U/L$$

Donde:

Vt: Volumen total de la mezcla de reacción

Vs: Volumen de muestra

I: Paso de luz de la cubeta

C: Coeficiente de extinción molar de p-nitrofenol, 10.600

Determinar la ΔAbs/min promedio y multiplicar por el factor:

U/L (37°C) = 2930 × ΔAbs 405 nm /min

μkat / L (37°C) = 48.8 × ΔAbs 405 nm /min

VALORES DE REFERENCIA

Suero / Plasma: 28 – 100 U/L (0,47 – 1,67 μkat/L)

Orina: ≤ 460 U/L (≤ 7,67 μkat/L)

Los valores indicados son a título orientativo. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

PRESTACIONES. CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Las características de funcionamiento de un producto dependen tanto del reactivo como del sistema de lectura empleado. Los resultados siguientes se han obtenido de forma manual.

Sensibilidad, como límite de detección: 12 U/L

Linealidad: Hasta 1500 U/L. Con actividades superiores se aconseja diluir la muestra 1/10 con salina (NaCl 0,9%) y repetir el ensayo. Multiplicar el resultado por 10

Exactitud, como % de recuperación: 98,8%

Precisión en la serie, como CV%: 1,56%

Precisión entre series, como CV%: 1,98%

Veracidad. Los resultados obtenidos con el reactivo no presentan diferencias significativas al compararlo con el reactivo considerado de referencia

Los datos detallados del estudio de las prestaciones del reactivo están disponibles bajo demanda.

INTERFERENCIAS

No hay interferencia por la bilirrubina hasta 15 mg/dL ni por la hemoglobina hasta 450 mg/dL.

NOTAS

Debe evitarse la contaminación por saliva o sudor del material o de las muestras usadas, pues al contener α-amilasa falsearían los resultados.

AUTOANALIZADORES

Adaptaciones a distintos analizadores automáticos están disponibles bajo demanda.

BIBLIOGRAFÍA

Junge, W., Troge, B., Klein, G., Poppe, W., Gerber, H. (1989). Clin. Biochem. 22, 109 – 114.
Lorentz, K., (2000). Clin.Chem., 46, 644-649.



AMYLASE LIQUID

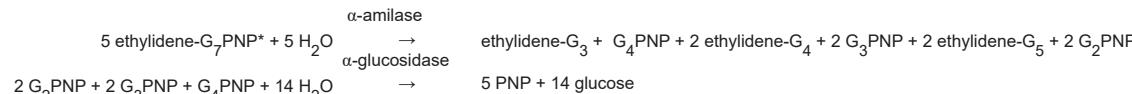
IFCC METHOD

For "in vitro" determination of α -amylase

PRINCIPLE

The p-NP group is bonded to a maltose oligosaccharide with a blocked end by ethyldene. α -amylase reacts with the substrate producing lower chain oligosaccharides that, after the action of α -glucosidase, liberate the p-NP coloured group.

The Abs at 405 nm is directly related to α -amylase activity of the sample.



* 4,6-ethyldene(G_n)-p-nitrophenyl(G_n)- α ,D maltoheptaoside;

* PNP = p-Nitrophenol

DIAGNOSTIC USE

Determination of amylase activity, in sera or urines, is used for assessing the possibility of chronic or acute pancreatitis.

An 80% of patients suffering from acute pancreatitis have elevated values during the first 24 hours. Serum amylase values may be elevated in patients with parotitis, intestinal obstruction, cholecystitis, diabetic ketoacidosis or peritonitis and in chronic alcoholics. Some lung or ovarian tumours can give elevated values of amylase.

Single test result can not be used to make a clinical diagnosis. It should integrate clinical and laboratory data.

REAGENTS

Kit 1 x 60 mL. (Ref. 99 60 66). Contents:

A. 1 x 50 mL Buffer / Enzyme	Ref. 99 60 88
B. 1 x 10 mL Buffer / Substrate	Ref. 99 60 90

Kit 1 x 120 mL. (Ref. 99 26 40). Contents:

A. 1 x 100 mL Buffer / Enzyme	Ref. 99 26 45
B. 1 x 20 mL Buffer / Substrate	Ref. 99 26 50

WORKING REAGENT PREPARATION

Reagents A and B are ready-to-use. If a Monoreagent procedure is preferred, then the reagents must be mixed in the ratio: 5 parts of A (Buffer/Enzyme) + 1 part of B (Buffer / Substrate).

WORKING REAGENT CONCENTRATIONS

The concentrations in the reagent solution are:

Hepes buffer pH 7.1	65 mM
NaCl	95 mM
MgCl ₂	15 mM
Ethyldene-G7PNP	17 mM
α -glucosidase	≥ 4500 U/L
Stabilizers and preservatives	

STORAGE AND STABILITY

When stored at 2-8°C the components of the kit will remain stable until the expiration date stated on the label. The Monoreagent is stable for 1 week at 2-8°C and for 3 days at room temperature ($\leq 25^\circ\text{C}$), when protected from the sunlight.

Signs of reagent deterioration:

Reagent turbid or with visible particles. Reagent blank: > 0.300 . A slight yellowing of the reagent solution does not affect the determination.

ADDITIONAL EQUIPMENT

General laboratory equipment.

Spectrophotometer or photometer thermostatable at 37°C. Cuvette: 1 cm light-path.

SAMPLE

Serum or plasma with heparin or urine. Samples free from hemolysis should be used.

In absence of bacterial contamination the α -amylase activity in serum or plasma will remain stable for 6 days when stored at 2-8°C. α -amylase activity in urine will remain stable for 10 days at 2-8°C, and for 2 days at room temperature ($< 25^\circ\text{C}$).

CAUTION

The reagents contain sodium azide at 0.09%. Handle with care.

The safety statements are on the label. It is advisable to look at the SDS before using the reagent. The calibrator must be considered as a human sample, and, thus, potentially infectious. Use adequate protection.

The disposal of the residues has to be made according to local regulations.

QUALITY CONTROL

Control serum, Seriscann Normal (Ref. 99 41 48) and Seriscann Anormal (Ref. 99 46 85) should be included in each test series. Each particular laboratory should establish its own control program.

AUTOANALYZERS

Adaptations to different autoanalyzers are available on request.

PROCEDURE

Bring the working reagent and the analyzer to 37°C.

Technique	Monoreagent mL	Bireagent mL
Monoreagent (A+B)	3.00	---
Reagent A	---	2.50
Sample	0.10	0.10
Reagent B	---	0.50

Mix well and incubate for 3 min. Read the absorbance and start the stopwatch at the same time. Read the absorbance again, after exactly 1, 2 and 3 min.

Determine the average Δ Abs/min of the three readings.

Reading

Wavelength: 405 nm (405 – 420 nm)

Blank: against air

Cuvette: Thermostated 1 cm light-path.

Semimicromethod

It can be carried out with half of the volumes as those in the macro method.

CALCULATIONS

Use the stated formula for factor calculation:

$$\Delta\text{Abs}/\text{min} \times \frac{Vt \times 10^6}{E \times I \times Vs} = U/L$$

Vt: Reaction total volume

Vs: Sample volume

I: Cuvette light path

E: Extinction Coefficient of p-nitrophenol, 10.600

Determine the mean Δ Abs/min value and multiply by the factor:

U / L (37°C) = 2930 \times Δ Abs 405 nm./min.

μkal / L (37°C) = 48.8 \times Δ Abs 405 nm/min.

REFERENCE VALUES

Serum / Plasma: 28 - 100 U/L (0.47- 1.67 μkal/L)

Urine: ≤ 460 U/L (≤ 7.67 μkal/L)

Each particular laboratory should establish its own normal range, obtained from samples of a representative population, using its own instrumentation, blood collection methods and assaying procedures.

PERFORMANCE. CARACTÉRISTIQUES DE FONCTIONNEMENT

Le fonctionnement du produit dépend tant du réactif que du système de lecture manuel ou automatique utilisé. Les résultats suivants ont été obtenus avec une méthode manuelle:

Sensibilité comme limite de détection: 12 U/L

Linéarité: L'essai est linéaire jusqu'à 1500 U/L. Pour des concentrations plus élevées, diluer l'échantillon 1/10 avec une solution saline (NaCl 0,9%). Multipliez le résultat par 10.

Exactitude: le pourcentage de récupération est de 98,8 %.

Coefficient de variation dans la série: 1,56 %

Coefficient de variation entre les séries: 1,98 %

Justesse: Les résultats obtenus avec le réactif ne sont pas significativement différents par rapport au réactif de référence considéré.

L'étude détaillée de la performance du réactif sont disponibles sur demande.

INTERFÉRENCES

Aucune interférence n'a été observée avec la bilirubine jusqu'à 15 mg/dL ni avec l'hémoglobine jusqu'à 450 mg/dL.

NOTES

Sweat and saliva contamination in the glassware will alter the final results

REFERENCES

Junge, W., Troge, B., Klein, G., Poppe, W., Gerber, H. (1989). Clin. Biochem. 22, 109 – 114.
Lorentz, K., (2000). Clin.Chem., 46, 644-649.





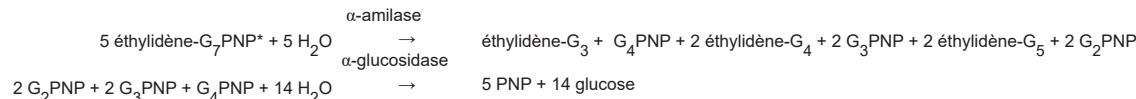
AMYLASE LIQUIDE

MÉTHODE IFCC

Pour la détermination "in vitro" de l' α-amylase

PRINCIPE

Le substrat, un oligosaccharide de maltose, est relié par une extrémité au groupe chromogène, tandis que l'autre est bloquée par un groupe. La dégradation du substrat démarre à l'ajout de l'α-amylase de l'échantillon et les oligosaccharides à chaîne plus courte produits interagissent avec l'enzyme α-glucosidase, ce qui libère le groupe p-nitrophénol. L'augmentation de Abs à 405 nm est directement liée à l'activité α-amylase de l'échantillon.



* 4,6-éthylidène(G7)-p-nitrophényl(G1)-α,D maltoheptaoside.

* PNP = p-nitrophénol

UTILITÉ DE DIAGNOSTIC

La détermination de l'activité amylasique, dans le sérum ou les urines, est utilisée pour évaluer un diagnostic de pancréatite chronique ou aiguë. 80% des patients souffrant de pancréatite chronique présentent des valeurs élevées d'amylase au cours des premières 24 heures.

Des valeurs élevées d'amylase peuvent être retrouvées chez les patients atteints de parotidite, d'infarctus intestinal, de troubles du tractus bilaire, d'acidocétose diabétique ou d'une péritonite. Certaines tumeurs du poumon ou des ovaires peuvent également entraîner des valeurs élevées du niveau d'amylase.

Des valeurs élevées sont détectées chez les alcooliques chroniques.

Un test de laboratoire unique ne peut pas établir un diagnostic. Les résultats doivent être évalués dans le contexte de toutes les données cliniques et de laboratoire obtenus.

RÉACTIFS

Kit 1 x 60 mL. (Réf. 99 60 66). Contenu:

A. 1 x 50 mL Tampon/enzymes Réf. 99 60 88
B. 1 x 10 mL Tampon/substrat Réf. 99 60 90

Kit 1 x 120 mL. (Réf. 99 26 40). Contenu:

A. 1 x 100 mL Tampon/enzymes Réf. 99 26 45
B. 1 x 20 mL Tampon/substrat Réf. 99 26 50

PRÉPARATION DU RÉACTIF DE TRAVAIL

Les réactifs A et B sont prêts à l'emploi. En cas d'utilisation de la technique Monoréactif: mélanger les quantités souhaitées, mais en maintenant la proportion 5 volumes de A (Tampon/Enzymes) + 1 volume de B (Tampon/Substrat).

COMPOSITION DU RÉACTIF DE TRAVAIL

Les concentrations dans la solution réactive sont les suivantes:

Tampon Hepes pH 7,1	65 mM
NaCl	95 mM
MgCl ₂	15 mM
Éthylidène-G7PNP	17 mM
α-glucosidase	≥ 4500 U/l
Stabilisants et conservateurs	

CONSERVATION ET STABILITÉ

Conservez entre 2-8°C, les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Une fois les composants A et B mélangés, cette solution monoréactive est stable pendant 1 semaine entre 2-8°C et 3 jours à température ambiante (≤ 25°C). À conserver à l'abri de la lumière.

Les réactifs seront altérés si:

Il existe une présence de particules ou de turbidité. Blanc Réactif de travail > 0,300.
Une légère coloration jaunâtre de la solution réactive n'a aucune influence sur la détermination.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

Matériel courant de laboratoire.

Spectrophotomètre, analyseur automatique ou photomètre thermostaté à 37 °C. Récipient de 1 cm de trajet optique.

ÉCHANTILLON

Sérum ou plasma héparinisé ou urine. Utiliser des échantillons exempts d'hémolyse. En l'absence de contamination bactérienne, l'activité de l'α-amylase dans le sérum ou le plasma est stable au réfrigérateur entre 2-8°C pendant six jours. Dans l'urine, cette activité est stable pendant dix jours entre 2-8°C et deux jours à température ambiante (≤ 25 °C).

PRÉCAUTIONS

Les réactifs contiennent de l'azide de sodium à 0,09 %. Manipuler avec précaution.

Les indications de sécurité figurent sur l'étiquette des produits. Le calibrateur doit être considéré comme un échantillon humain et donc potentiellement infectieux. Utiliser des protections adéquates. Il est conseillé de consulter la fiche de données de sécurité avant de manipuler le réactif. L'élimination des déchets doit être réalisée conformément aux normes en vigueur.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Nous recommandons l'inclusion de sérum de contrôle Seriscann normale (Réf. 99 41 48) et Seriscann anormale (Réf. 99 46 85) dans chaque processus de mesure pour vérifier les résultats. Nous suggérons que chaque laboratoire d'établir son propre programme et les procédures de correction des écarts dans les mesures de contrôle qualité.

AUTOANALYSEURS

Des adaptations aux différents analyseurs automatiques sont disponibles sur demande.

TECHNIQUE

Incuber le réactif de travail et l'analyseur pendant 10 minutes à 37°C.

Technique	Monoréactif mL	Biréactif mL
Monoréactif (A+B)	3,00	---
Réactif A	---	2,50
Échantillon	0,10	0,10
Réactif B	---	0,50

Mélanger et incuber pendant trois minutes puis mettre en marche le chronomètre. Lire l'absorption. Répéter les lectures exactement toutes les minutes pendant 3 minutes.

Déterminez ΔAbs/min moyenne des trois lectures.

Lecture

Longueur d'onde: 405 nm (400 à 420 nm)

Blanc: lecture contre l'air

Cuvette: thermostatée de 1 cm de trajet optique.

Technique semi-micro

Elle peut être effectuée avec la moitié des volumes indiqués précédemment.

CALCULS

En utilisant la formule indiquée pour obtenir le facteur de calcul des U/L :

$$\Delta\text{Abs}/\text{min} \times \frac{Vt \times 10^6}{C \times I \times Vs} = \text{U/L}$$

Où:

I: trajet optique

Vt : Volume total du mélange de réaction

Vs : Volume de l'échantillon

C : Coefficient d'extinction molaire de p-nitrophénol, 10.600

Calculer la valeur ΔAbs/min obtenue à chaque lecture ainsi que la valeur moyenne. Les U/L sont calculées à partir de:

$$\text{U/L (37°C)} = 2,930 \times \Delta\text{Abs} 405 \text{ nm/min}$$

$$\mu\text{kat/L (37°C)} = 48,8 \times \Delta\text{Abs} 405 \text{ nm/min}$$

VALEURS DE RÉFÉRENCE

Sérum/plasma: 28 à 100 U/L (0,47 à 1,67 μkat/L)

Urine: ≤ 460 U/L (≤ 7,67 μkat/L)

Il est recommandé que chaque laboratoire établisse ses propres valeurs de référence.

PERFORMANCE. CARACTÉRISTIQUES DE FONCTIONNEMENT

Le fonctionnement du produit dépend tant du réactif que du système de lecture manuel ou automatique utilisé. Les résultats suivants ont été obtenus avec une méthode manuelle:

Sensibilité comme limite de détection: 12 U/L

Linéarité: L'essai est linéaire jusqu'à 1500 U/L. Pour des concentrations plus élevées, diluer l'échantillon 1/10 avec une solution saline (NaCl 0,9%). Multipliez le résultat par 10.

Exactitude: Le pourcentage de récupération est de 98,8 %.

Coefficient de variation dans la série: 1,56 %

Coefficient de variation entre les séries: 1,98 %

Justesse. Les résultats obtenus avec le réactif ne sont pas significativement différents par rapport au réactif de référence considéré.

L'étude détaillée de la performance du réactif sont disponibles sur demande.

INTERFÉRENCES

Aucune interférence n'a été observée avec la bilirubine jusqu'à 15 mg/dL ni avec l'hémoglobine jusqu'à 450 mg/dL.

NOTES

La contamination par la salive ou la sueur du matériel ou des échantillons utilisés doit être évitée, car l'essai pourrait donner de faux résultats en raison de leur teneur en α-amylase.

BIBLIOGRAPHIE

Junge, W., Troge, B., Klein, G., Poppe, W., Gerber, H. (1989). Clin. Biochem. 22, 109 – 114.
Lorentz, K., (2000). Clin.Chem., 46, 644-649.

