

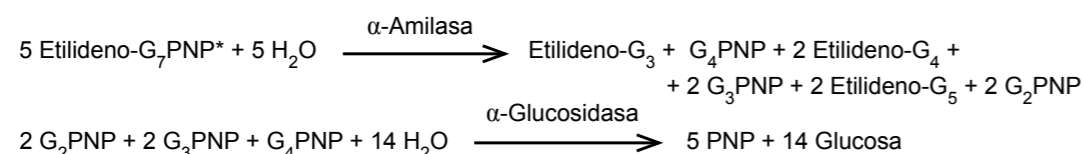
AMILASA LIQUIDA

METODO IFCC

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



Principio



* 4,6-Etilideno(G_7)-p-nitrofenil(G_1)- α ,D maltoheptaósido.
* PNP = p-Nitrofenol

Reactivos

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

A. 1 x 50 ml. Tampón / Enzimas. Ref. 99 60 88
B. 1 x 10 ml. Tampón / Substrato. Ref. 99 60 90

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

A. 1 x 100 ml. Tampón / Enzimas. Ref. 99 26 45
B. 1 x 20 ml. Tampón / Substrato. Ref. 99 26 50

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 / Substrato).

Las concentraciones en la disolución reactiva son:

Tampón Hepes pH 7,1 65 mM
NaCl 95 mM
MgCl₂ 15 mM
Etilideno-G₇PNP 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 monoreactiva es estable, 2 semanas a 2-8° C y 5 días a temperatura ambiente. Proteger de la luz.

Muestra

Suero o 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 2-8°C y 2 días a temp. ambiente ($\leq 25^\circ\text{C}$).

Técnica	Monorreactivo	Birreactivo
1.Temp. (37°C.)	muestra	muestra
	ml	ml
Monorreac. (A+B)	3,00	---
Reactivo A	---	2,50
Muestra	0,10	0,10
Reactivo B	---	0,50

Mezclar e incubar durante 3 min., poner en marcha el cronómetro y leer la absorción. Repetir las lecturas exactamente después de 1, 2 y 3 min.

Lectura

Longitud de onda: Hg 405 nm; (400 - 420 nm).

Blanco: medida frente a aire.

Cubeta: Termostaticada, 1 cm. paso de luz.

Cálculos

Determinar la $\Delta E/\text{min.}$ obtenida en cada lectura y hallar el valor medio.

Suero, plasma, orina

U/L (37° C) = 2930 x ΔE 405 nm./min.

$\mu\text{kal/L}$ (37° C) = 48.8 x ΔE 405 nm./min.

Valores Normales

Suero / plasma: 28 - 100 U/L (0,47- 1,67 $\mu\text{kal/L}$)

Orina: ≤ 460 U/L (≤ 7.67 $\mu\text{kal/L}$)

Precauciones

El reactivo contiene Azida sódica al 0,09%, manipular con precaución. La eliminación de residuos debe hacerse según la normativa legal vigente.

Técnica Semimicro

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

Prestaciones. Características de funcionamiento.

Linealidad: Hasta $\Delta E/\text{min.}$ de 0,300. Con actividades superiores se aconseja diluir la muestra 1/10 con salina (NaCl 0.9%) y repetir el ensayo. Multiplicar el resultado por 10.

Las características de funcionamiento del producto dependen tanto del reactivo como del sistema de lectura manual o automático empleados. Los siguientes datos se han obtenido de forma manual:

Coefficiente de Variación en la serie: 1,56%

Coefficiente de Variación entre series: 1,98%

Exactitud: 98,8 de porcentaje de recuperación.

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

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

No hay interferencia por la Bilirrubina hasta 15 mg/dl ni Hemoglobina hasta 450 mg/dl.

Control de calidad

Seriscann Normal (Ref. 99 41 48) y Seriscann Anormal (Ref. 99 46 85).

Autoanalizadores

Adaptaciones a distintos analizadores automáticos, 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.

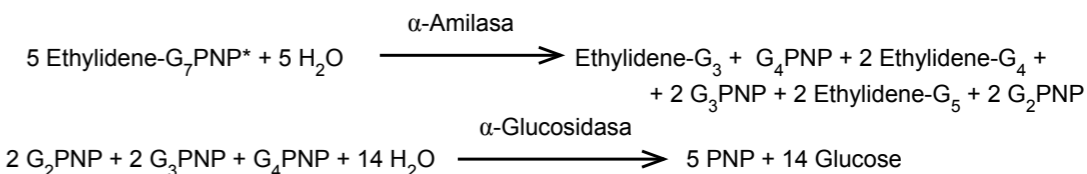
AMYLASE LIQUID

IFCC METHOD

For "in vitro" determination of α -Amylase



Principle



* 4,6-Ethylidene(G_7)-p-nitrophenyl(G_1)- α ,D maltoheptaoside.
* PNP = p-Nitrophenol

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

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).

The concentrations in the reagent solution are:

Hepes buffer pH 7.1 65 mM
NaCl 95 mM
MgCl₂ 15 mM
Ethylidene-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 2 weeks at 2-8°C and for 5 days at room temperature ($\leq 25^\circ\text{C}$), when protected from the sunlight.

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.

Procedure	Monoreagent	Bireagent
1.Temp. (37°C.)	sample	sample
	ml	ml
Monoreag. (A+B)	3.00	---
Reagent A	---	2.50
Sample	0.10	0.10
Reagent B	---	0.50

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

Reading

Wavelength: Hg 405 nm. (405 - 420 nm).

Blank: against air.

Cuvette: Thermostated 1 cm light-path.

Calculations

Determine the $\Delta E/\text{min.}$ for every reading and find the mean value.

Serum, plasma, urine

U/L (37° C) = 2930 x ΔE 405 nm./min.

$\mu\text{kal/L}$ (37° C) = 48.8 x ΔE 405 nm./min.

Normal values

Serum / plasma: 28 - 100 U/L (0,47- 1.67 $\mu\text{kal/L}$)

Urine: ≤ 460 U/L (≤ 7.67 $\mu\text{kal/L}$)

Caution

The reagent contains Sodium azide at 0.09%. Handle with care. The disposal of the residues has to be made according to legal local regulations.

Semimicromethod

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

Performance Characteristics

Linearity: Up to $\Delta E/\text{min.}$ = 0.300. For higher values, it is recommended to dilute the sample 1/10 in saline (NaCl 0.9%) and assay once again.

Multiply the final result by 10.

The analytical performance characteristics of the product depend both of the reagent and the reading system used, manual or automatic. The following data have been obtained manually.

Intraserie Variation Coefficient: 1.56%

Interserie Variation Coefficient: 1.98%

Recovery: 98.8 %.

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

A slight yellowing of the reagent solution does not affect the determination.

Bilirubin concentrations higher than 15 mg/dl, and Haemoglobin higher than 450 mg/dl will interfere with the reaction.

Quality control

Seriscann Normal (Normal Control Serum) (Ref. 99 41 48) and Seriscann Abnormal (Abnormal Control Serum) (Ref. 99 46 85).

Autoanalyzers

Technical bulletins for different analyzers are available upon request.

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.

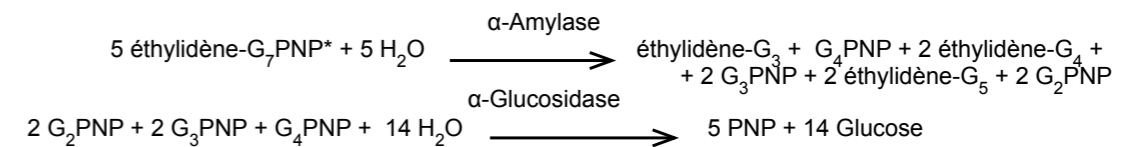


AMYLASE LIQUIDE

MÉTHODE IFCC

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

Principio



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

* PNP = p-nitrophénol

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

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).

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

Conservés au réfrigérateur entre 2 et 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 deux semaines entre 2 et 8 °C et cinq jours à température ambiante. À conserver à l'abri de la lumière.

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 et 8 °C pendant six jours. Dans l'urine, cette activité est stable pendant dix jours entre 2 et 8 °C et deux jours à température ambiante (≤ 25 °C).

Technique	Monoréactif	Biréactif
1. Temp. (37 °C)	échantillon	échantillon
	ml	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.

Lecture

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

Blanc: lecture contre l'air.

Cuvette: thermostatée de 1 cm de trajet optique.

Calculs

Déterminer la valeur $\Delta E/\text{min}$ obtenue à chaque lecture ainsi que la valeur moyenne.

Sérum, plasma et urine

U/l (37 °C) = $2.930 \times \Delta E$ 405 nm./min

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

Valeurs normales

Sérum/plasma: 28 à 100 U/l (0,47 à 1,67 $\mu\text{kat/l}$)

Urine: ≤ 460 U/l ($\leq 7,67$ $\mu\text{kat/l}$)

Précautions d'emploi

Le réactif contient de l'azide de sodium à 0,09 %. Manipuler avec précaution. L'élimination des déchets doit être effectuée conformément aux normes en vigueur.

Technique Semi-micro

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

Fonctionnement et caractéristiques de performance du dispositif.

Linéarité: jusqu'à la valeur $\Delta E/\text{min}$ de 0,300. En cas d'activités supérieures, il est conseillé de diluer l'échantillon au 1/10 avec la solution saline (NaCl 0,9 %) puis de répéter l'essai. Multiplier le résultat par 10.

Le fonctionnement du produit dépend tant du réactif que du système de lecture manuel ou automatique utilisé. Une technique manuelle a permis d'obtenir les données suivantes:

Coefficient de variation dans la série: 1,56 %

Coefficient de variation entre les séries: 1,98 %

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

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.

Une légère coloration jaunâtre de la solution réactive n'a aucune influence sur la détermination.

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

Contrôle de qualité

Seriscann normal (Réf. 99 41 48) et Seriscann anormal (Réf. 99 46 85).

Analyseurs automatiques

Des adaptations à différents analyseurs automatiques sont disponibles sur demande.

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.