



Amilasa 405

AA

Método cinético a 405 nm para la determinación de amilasa en suero, plasma u orina. Sustrato CNPG3

SIGNIFICACION CLINICA

La amilasa, producida principalmente en el páncreas exócrino y en las glándulas salivales, escinde los enlaces α -1-4 glucosídicos de los polisacáridos (almidón y glucógeno).

Se encuentra elevada en el suero de pacientes con pancreatitis aguda alcanzando los valores más elevados entre las 24 y 30 horas posteriores al ataque, declinando luego para volver a los niveles normales entre las 24 y 48 horas siguientes.

También se ve aumentada en este caso la excreción urinaria de la enzima, persistiendo la hiperamilasuria 3 a 5 días, luego de que la actividad sérica ha alcanzado los niveles normales. También es posible encontrar valores aumentados en cualquier caso de "abdomen agudo" o intervención quirúrgica en regiones próximas al páncreas.

La parotiditis bacteriana y paperas se asocian también con elevaciones en los niveles de amilasa sérica.

FUNDAMENTOS DEL METODO

La α -amilasa hidroliza el sustrato definido 2-cloro-p-nitrofenil- α -D-maltotriósido (CNP-G3) para liberar 2-cloro-p-nitrofenol (CNP), formándose 2-cloro-nitrofenil- α -D-maltósido (CNP-G2), maltotriosa (G3) y glucosa. El CNP absorbe a 405 nm y la velocidad de aparición del color es directamente proporcional a la actividad enzimática.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución conteniendo CNP-G3 2,25 mmol/l, cloruro de calcio 5 mmol/l, cloruro de sodio 70 mmol/l, tiocianato de potasio 900 mmol/l y buffer MES pH 6, 100 mmol/l.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivo A: listo para usar.

PRECAUCIONES

El Reactivo A es para uso diagnóstico "in vitro".

El Reactivo A es irritante. H319: Provoca irritación ocular grave. P262: Evitar el contacto con los ojos, la piel o la ropa. P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir enjuagando. P302 + P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivo Provisto: estable en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

El Reactivo A puede presentar una coloración amarillenta que no afecta su funcionamiento.

Cuando el espectrofotómetro ha sido llevado a cero con agua destilada, las lecturas de absorbancia del Reactivo A superiores a 0,500 D.O. (a 405 nm) son indicio de deterioro del mismo.

MUESTRA

Suero, plasma heparinizado u orina

a) Recolección: si se utiliza suero, obtener de la manera usual. Separar el suero del coágulo lo más rápidamente posible. En caso de usar plasma éste debe ser heparinizado. Si se emplea orina, la determinación puede efectuarse en una muestra de orina ocasional.

b) Aditivos: en caso de usar plasma, debe utilizarse heparina para su obtención. Si se usa orina ver d).

c) Sustancias interferentes conocidas: no se observan interferencias por bilirrubina hasta 22 mg/dl (220 mg/l), hemoglobina hasta 180 mg/dl, triglicéridos hasta 1400 mg/dl (14 g/l), ni heparina hasta 50 U/ml.

En el caso de orina no debe agregarse ácido clorhídrico como conservador.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: en suero la amilasa es estable durante una semana a temperatura ambiente (si se evita la contaminación bacteriana) o varios meses refrigerada.

En orina, si la muestra no se procesa en el día, es conveniente ajustar el pH aproximadamente a 7 (con hidróxido de sodio) dado que el pH ácido inactiva la enzima irreversiblemente. A pH 7 puede conservarse refrigerada por lo menos 10 días sin pérdida de actividad, si no existe contaminación bacteriana.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Cubetas espectrofotométricas de caras paralelas.
- Baño de agua a la temperatura de reacción seleccionada.
- Cronómetro.

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 405 nm
- Temperatura de reacción: 25, 30 ó 37°C
- Tiempo de reacción: 2 minutos

PROCEDIMIENTO

A) 25-30°C

En una cubeta mantenida a la temperatura seleccionada, colocar:

Reactivo A	2 ml
------------	------

Preincubar 3-4 minutos. Luego agregar:

Muestra	100 ul
---------	--------

Mezclar inmediatamente y leer absorbancia luego de 1 y 2 minutos. Determinar la diferencia entre la segunda y la primera lectura. Utilizar este valor para los cálculos. Se pueden disminuir proporcionalmente los volúmenes usando 1 ml de Reactivo A y 50 ul de Muestra.

B) 37°C

Como la actividad a esta temperatura es mayor, emplear 50 ul de Muestra. Seguir el procedimiento según A). Se pueden disminuir los volúmenes usando 1 ml de Reactivo A y 20 ul de Muestra.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Amilasa (U/l) = $\Delta A/\text{min} \times \text{factor}^*$

Temperatura	Reactivo A	Muestra	Factor
25-30°C	2 ml	100 ul	1.628
	1 ml	50 ul	1.628
37°C	2 ml	50 ul	3.178
	1 ml	20 ul	3.953

*los factores están calculados de acuerdo a la siguiente fórmula general:

VT

$$\text{Factor} = \frac{VT}{VM \times b \times \epsilon_{\text{CNP}} \times 10^{-3}}$$

donde:

VT: volumen total

VM: volumen de muestra

b: paso óptico

ϵ_{CNP} : coeficiente de absortividad milimolar del CNP

10^{-3} : factor de conversión (absortividad milimolar a micromolar)

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Si la muestra a ensayar es suero, procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con actividades conocidas de amilasa, con cada determinación.

VALORES DE REFERENCIA

Temperatura	25°C	30°C*	37°C
Suero hasta	84 U/l	100 U/l	125 U/l
Orina ocasional hasta**	455 U/l	540 U/l	680 U/l

* Calculados

** Estos valores de referencia se obtuvieron de una población sana (n = 40), de ambos sexos, con edades comprendidas entre 17 y 40 años, con una dieta mixta normal, sin síntomas de enfermedad aparente.

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

Amilasa (U/l) $\times 0,017$ = Amilasa (ukat/l)

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

No pipetear con la boca.

Constituye una causa de resultado erróneo la contaminación del Reactivo A con saliva, dada la elevada actividad amilásica de la misma. En tal caso, descartar el Reactivo.

Evitar el contacto con elementos de goma (tapones, contratas) que deterioran el Reactivo A.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: procesando simultáneamente replicados de una misma muestra en un mismo día se obtiene:

Nivel	D.S.	C.V.
51 U/l	$\pm 0,978$ U/l	1,9 %
467 U/l	$\pm 2,139$ U/l	0,46 %

b) Sensibilidad: depende del fotómetro empleado. En espectrofotómetro a 405 nm con cubetas de caras paralelas de 1 cm de espesor, para un $\Delta A/\text{min}$ de 0,001 el mínimo cambio de actividad detectable será de 4 U/l (a 37°C).

c) Linealidad: la reacción es lineal hasta una actividad de amilasa de 2000 U/l. Para valores superiores, usar muestra diluida con solución salina, repetir la determinación y multiplicar el resultado por el factor de dilución.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso.

PRESENTACION

- 1 x 37 ml (Cód. 1008142)
- 3 x 10 ml (Cód. 1021404)
- 3 x 10 ml (Cód. 1009326)
- 4 x 20 ml (Cód. 1009243)
- 4 x 20 ml (Cód. 1009603)
- 4 x 20 ml (Cód. 1009910)

BIBLIOGRAFIA

- Rauscher, E. et al - Clin. Chem. 31/1:14, 1985.
- Tietz, N. - Clinical Guide to Laboratory Tests - W.B. Saunders Co., 1983.
- Lorenzo, L.; Demaría, I.; Setta, F.; Taborda, M. - 44th National Meeting, AACC, 19-23 julio, 1992, Chicago, Illinois. Clin. Chem. 38/6:935, Abs. 3, 1992.
- Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular - Química Clínica 15/1:51, 1996.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- NCCLS document "Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods", EP6-P (1986).

Amilasa 405

AA

Método cinético a 405 nm para a determinação de amilase em soro, plasma ou urina. Substrato CNPG3



SIGNIFICADO CLÍNICO

A amilase, produzida principalmente no pâncreas exócrino e nas glândulas salivares; divide as uniões α 1-4 glicosídicas dos polissacarídeos (amido e glicógeno). Encontra-se aumentada no soro de pacientes com pancreatite aguda, alcançando os valores mais elevados entre 24 e 30 horas após o ataque, declinando logo para voltar aos níveis normais nas 24 e 48 horas seguintes. A excreção urinária da enzima também está aumentada neste caso, persistindo a hiperamilasúria por 3 a 5 dias, tão logo a atividade sérica tenha alcançado níveis normais. Também é possível encontrar valores aumentados em qualquer caso de "abdômen agudo" ou intervenção cirúrgica em regiões próximas ao pâncreas.

As parotidites bacterianas e caxumba também estão relacionadas com elevações nos níveis de amilase sérica.

FUNDAMENTOS DO MÉTODO

A α -amilase hidrolisa o substrato definido 2-cloro-p-nitrofenil- α -D-maltotriósido (CNP-G3) para liberar 2-cloro-p-nitrofenol (CNP), formando-se 2-cloro-nitrofenil- α -D-maltósido (CNP-G2), maltotriose (G3) e glicose. O CNP absorve a 405 nm e a velocidade de formação da cor é diretamente proporcional à atividade enzimática.

REAGENTES FORNECIDOS

A. Reagente A: solução contendo CNP-G3 2,25 mmol/l, cloreto de cálcio 5 mmol/l, cloreto de sódio 70 mmol/l, tiocianato de potássio 900 mmol/l e tampão MES pH 6, 100 mmol/l.

INSTRUÇÕES DE USO

Reagente A: pronto para uso.

PRECAUÇÕES

O Reagente A é para uso diagnóstico "in vitro".

O Reagente A é irritante. H319 Provoca irritação ocular grave. P262 Não pode entrar em contacto com os olhos, a pele ou a roupa. P305 + P351 + P338 SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar. P302 + P352 SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar com sabonete e água abundantes. P280 Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial.

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Reagente Fornecido: estável sob refrigeração (2-10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem.

INDÍCIOS DE INSTABILIDADE OU DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES

O Reagente A pode desenvolver uma coloração amarelada que não afeta seu funcionamento.

Quando o espectrofotômetro for zerado com água destilada, leituras de absorbância do Reagente A superiores a 0,500 D.O. (a 405 nm) são indicio de deterioração do mesmo.

AMOSTRA

Soro, plasma heparinizado ou urina

a) Coleta: caso seja utilizado soro, obter da maneira usual, separando o soro do coágulo o mais rapidamente possível.

No caso de se utilizar plasma, este deve ser heparinizado. Se for empregada urina, a determinação pode ser feita em amostra de urina ocasional.

b) Aditivos: caso de se utilizar plasma, deve-se utilizar heparina para a sua obtenção. Se for utilizada urina, ver d).
c) Substâncias interferentes conhecidas: não se observam interferências por bilirrubina até 22 mg/dl (220 mg/l), hemoglobina até 180 g/dl, triglicérides até 1400 mg/dl (14 g/l), nem heparina até 50 U/ml. No caso de urina, não se deve adicionar ácido clorídrico como conservante.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

d) Estabilidade e instruções de armazenamento: no soro, a amilase é estável durante uma semana a temperatura ambiente (se a contaminação bacteriana for evitada) ou vários meses sob refrigeração.

Na urina, se a amostra não for processada no dia, é conveniente ajustar o pH aproximadamente a 7 (com hidróxido de sódio), dado que o pH ácido inativa a enzima irreversivelmente. A pH 7, pode ser conservada sob refrigeração pelo menos 10 dias, sem perda de atividade, se não houver contaminação bacteriana.

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro.
- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.
- Cubetas espectrofotométricas de faces paralelas.
- Banho-maria à temperatura de reação selecionada.
- Cronômetro.

CONDIÇÕES DE REAÇÃO

- Comprimento de onda: 405 nm
- Temperatura de reação: 25, 30 ou 37°C
- Tempo de reação: 2 minutos

PROCEDIMENTO

A) 25-30°C

Em uma cubeta mantida à temperatura selecionada, colocar:

Reagente A	2 ml
------------	------

Preincubar por 3-4 minutos. Adicionar, a seguir:

Amostra	100 ul
---------	--------

Misturar imediatamente e ler a absorbância nos tempos 1 e 2 minutos. Determinar a diferença entre a segunda e a primeira leitura. Utilizar este valor para os cálculos. Podem-se diminuir proporcionalmente os volumes utilizando 1 ml de Reagente A e 50 ul de Amostra.

B) 37°C

Como a atividade a esta temperatura é maior, empregar 50 ul de Amostra. Seguir o procedimento segundo A). Podem-se diminuir os volumes utilizando 1 ml de Reagente A e 20 ul de Amostra.

CÁLCULO DOS RESULTADOS

Amilase (U/l) = $\Delta A / \text{min} \times \text{fator}^*$

Temperatura	Reagente A	Amostra	Fator
25-30°C	2 ml	100 ul	1.628
	1 ml	50 ul	1.628
37°C	2 ml	50 ul	3.178
	1 ml	20 ul	3.953

*os fatores são calculados segundo a seguinte fórmula geral:

$$\text{Fator} = \frac{VT}{VA \times b \times \epsilon_{\text{CNP}} \times 10^{-3}}$$

onde:

VT: volume total

VA: volume da amostra

b: passo óptico

ϵ_{CNP} : coeficiente de absorvidade milimolar do CNP

10^{-3} : fator de conversão (absorvidade milimolar a micromolar)

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Se a amostra a ensaiar for soro, processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Standatrol S-E 2 níveis**) com atividades conhecidas de amilase, com cada determinação.

VALORES DE REFERÊNCIA

Temperatura	25°C	30°C*	37°C
Soro até	84 U/l	100 U/l	125 U/l
Urina ocasional até**	455 U/l	540 U/l	680 U/l

* Calculados

** Estes valores de referência obtiveram-se a partir de uma população sadia (n = 40), de ambos sexos, com idades compreendidas entre 17 e 40 anos, com uma ingesta normal, sem sintomas de doença aparente.

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

CONVERSÃO DE UNIDADES AO SISTEMA SI

Amilase (U/l) $\times 0,017 =$ Amilase (ukat/l)

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA. Não pipetar com a boca.

A contaminação do Reagente A com saliva, constitui uma causa de resultado errôneo, desde que a mesma contém elevada atividade amilásica. Em tal caso, deve-se descartar o Reagente. Evitar o contato com elementos de borracha (tampões, batoques) porque deterioram o Reagente A.

DESEMPENHO

a) **Reprodutibilidade:** processando simultaneamente duplicatas de uma mesma amostra em um mesmo dia, é obtido:

Nível	D.P.	C.V.
51 U/l	$\pm 0,978$ U/l	1,9 %
467 U/l	$\pm 2,139$ U/l	0,46 %

b) **Sensibilidade:** depende do fotômetro empregado. Em espectrofotômetro a 405 nm com cubetas de faces paralelas de 1 cm de espessura, para um $\Delta A / \text{min}$ de 0,001 a menor alteração detectável será de 4 U/l (a 37°C).

c) **Linearidade:** a reação é linear até uma atividade de amilase de 2000 U/l. Para valores superiores deve-se utilizar amostra diluída com solução salina, repetir a determinação e multiplicar o resultado pelo fator de diluição.

PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Para a programação consultar o manual de uso do analisador a ser utilizado.

APRESENTAÇÃO

- 1 x 37 ml (Cód. 1008142)
- 3 x 10 ml (Cód. 1021404)
- 3 x 10 ml (Cód. 1009326)
- 4 x 20 ml (Cód. 1009243)
- 4 x 20 ml (Cód. 1009603)
- 4 x 20 ml (Cód. 1009910)

REFERÊNCIA

- Rauscher, E. et al - Clin. Chem. 31/1:14 (1985).
- Tietz, N. - Clinical Guide to Laboratory Tests - W.B. Saunders Co., 1983.
- Lorenzo, L.; Demaría, I.; Setta, F.; Taborda, M. - 44th National Meeting, AACC, 19-23 julio, 1992, Chicago, Illinois. - Clin. Chem. 38/6:935, Abs.3, 1992.
- Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular - Química Clínica 15/1:51, 1996.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- NCCLS document "Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods", EP6-P (1986).



Amilasa 405

AA

Kinetic method at 405 nm for the determination of amylase in serum, plasma or urine. CNPG3 substrate

SUMMARY

Amylase, mainly produced in the exocrine fraction of the pancreas and salivary glands, splits α -1-4 glycosidic bonds of polysaccharides (starch and glycogen).

Serum amylase levels increase in patients with acute pancreatitis, reaching its highest values between 24 and 30 hours after onset, then returning to normal levels during the 24 to 48 following hours. In this case the urinary output of the enzyme is also increased, hyperamylasuria lasting 3 to 5 days, once serum activity has reached normal levels.

It is also possible to find increased values in cases of "acute abdomen" or surgical operation surrounding the pancreas. Both bacterial parotiditis and mumps, which obstruct salivary amylase secretion, are also related to increases of serum amylase levels.

PRINCIPLE

α -amylase hydrolyzes the 2-chloro-p-nitrophenyl- α -D-maltotrioside (CNP-G3) definite substrate to release 2-chloro-p-nitrophenol (CNP), resulting in 2-chloro-nitrophenyl- α -D-maltoside (CNP-G2), maltotriose (G3) and glucose. CNP absorbs at 405 nm and color development is directly proportional to enzyme activity.

The use of a definite substrate, a substance of known structure and molecular weight, enables expression of results in U/l and does not require additional enzymes.

PROVIDED REAGENTS

A. Reagent A: solution containing 2.25 mmol/l CNP-G3, 5 mmol/l calcium chloride, 70 mmol/l sodium chloride, 900 mmol/l potassium thiocyanate and MES buffer pH 6, 100 mmol/l.

INSTRUCTIONS FOR USE

Reagent A: ready to use.

WARNINGS

The Reagent A is for "in vitro" diagnostic use.

Reagent A is irritant. H319: Causes serious eye irritation. P262 Do not get in eyes, on skin, or on clothing. P305 + P351 + P338 IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. P302 + P352 IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water. P280 Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories. The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

Provided Reagent: stable in refrigerator (2-10°C) until the expiration date shown on the box.

INSTABILITY OR DETERIORATION OF REAGENTS

The Reagent A may develop a yellowish coloration that does not affect its performance. Suspect deterioration of Reagent A if absorbance readings are higher than 0.500 O.D. (at 405 nm) after setting instrument to zero with distilled water.

SAMPLE

Serum, heparinized plasma or urine

a) Collection: if serum is used, collect in the usual way. Separate serum from clot as soon as possible. In case plasma is used, it should be heparinized. If urine is used, assay can be performed on an occasional urine sample.

b) Additives: in case plasma is used, use heparin for collection. If urine is used, refer to d).

c) Known interfering substances: no interferences are observed by: bilirubin up to 22 mg/dl (220 mg/l), hemoglobin up to 180 mg/dl, triglycerides up to 1400 mg/dl (14 g/l), nor heparin up to 50 U/ml.

Do not add hydrochloric acid as preservative for urine.

See Young, D.S. in References for effect of drugs on the present method.

d) Stability and storage instructions: serum amylase is stable for one week at room temperature (provided bacterial contamination is avoided) or for several months in refrigerator.

If urine amylase sample is not assayed on the same day, it is advisable to set pH at about 7 (with sodium hydroxide) since acid pH irreversibly inactivates the enzyme. With a pH 7, sample could be kept for at least 10 days in refrigerator without any loss of activity, provided there is no bacterial contamination.

REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Spectrophotometer
- Micropipettes and pipettes to measure stated volumes
- Spectrophotometric square cuvettes
- Water bath at selected reaction temperature
- Stopwatch

ASSAY CONDITIONS

- Wavelength: 405 nm
- Reaction temperature: 25, 30 or 37°C
- Reaction time: 2 minutes

PROCEDURE

A) 25-30°C

In a cuvette at the selected temperature, place:

Reagent A 2 ml

Preincubate 3-4 minutes. Then add:

Sample 100 ul

Mix at once and read absorbance after 1 and 2 minutes. Determine the difference between second and first readings. Use this value for calculations. Volumes can be proportionally reduced using 1 ml Reagent A and 50 ul Sample.

B) 37°C

Since the activity is greater at this temperature, use 50 ul as sample. Follow the same procedure as indicated in A). Volumes can be reduced using 1 ml Reagent A and 20 ul Sample.

CALCULATIONS

Amylase (U/l) = $\Delta A/\text{min} \times \text{factor}^*$

Temperature	Reagent A	Sample	Factor
25-30°C	2 ml	100 ul	1,628
	1 ml	50 ul	1,628
37°C	2 ml	50 ul	3,178
	1 ml	20 ul	3,953

*the factors are calculated following the formula below:

$$\text{Factor} = \frac{TV}{SV \times b \times \epsilon_{\text{CNP}} \times 10^{-3}}$$

where:

TV: total volume

SV: sample volume

b: light pass

ϵ_{CNP} : CNP milimolar absorption coefficient

10^{-3} : conversion factor (milimolar to micromolar)

QUALITY CONTROL METHOD

Each time the test is performed, analyze two levels of a quality control material (**Standatrol S-E 2 niveles**) with known amylase activity.

REFERENCE VALUES

Temperature	25°C	30°C*	37°C
Serum up to	84 U/l	100 U/l	125 U/l
Occasional urine up to**	455 U/l	540 U/l	680 U/l

*Calculated

**These reference values were obtained from a healthy population (n = 40), of both sexes, aged between 17 and 40 years old, with a normal diet and with no symptoms of apparent disease.

It is recommended that each laboratory establishes its own reference values.

SI SYSTEM UNITS CONVERSION

Amylase (U/l) x 0.017 = Amylase (ukat/l)

PROCEDURE LIMITATIONS

See Known interfering substances under SAMPLE.

Never pipette by mouth.

The contamination of the Reagent A with saliva constitutes cause of erroneous results, since it contains elevated amylase activity. In this case, discard the Reagent.

Avoid the contact with rubber elements (rubber caps, inside covers) which deteriorate the Reagent A.

PERFORMANCE

a) Reproducibility: simultaneously processing replicates of the same sample in the same day, the following values were obtained:

Level	S.D.	C.V.
51 U/l	± 0.978 U/l	1.9 %
467 U/l	± 2.139 U/l	0.46 %

b) Sensitivity: depends on the photometer used. In spectrophotometer at 405 nm (with 1 cm optical length square cuvettes) for $\Delta A/\text{min}$ of 0.001, the smallest detectable activity change will be of 4 U/l (at 37°C).

c) Linearity: the reaction is linear up to 2000 U/l amylase activity. For higher values use sample diluted with saline solution, repeat the test and multiply the results by the dilution factor.

PARAMETERS FOR AUTOANALYZERS

For programming instructions check the user manual of the autoanalyzer in use.

WIENER LAB PROVIDES

- 1 x 37 ml (Cat. N° 1008142).
- 3 x 10 ml (Cat. N° 1021404).
- 3 x 10 ml (Cat. N° 1009326).
- 4 x 20 ml (Cat. N° 1009243).
- 4 x 20 ml (Cat. N° 1009603).
- 4 x 20 ml (Cat. N° 1009910).

REFERENCES

- Rauscher, E. et al - Clin. Chem. 31/1:14, 1985.
- Tietz, N. - Clinical Guide to Laboratory Tests - W.B. Saunders Co., 1983.
- Lorenzo, L.; Demaría, I.; Setta, F.; Taborda, M. - 44th National Meeting, AACC, 19-23 julio, 1992, Chicago, Illinois. Clin. Chem. 38/6:935, Abs. 3, 1992.
- Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular - Química Clínica 15/1:51, 1996.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.



Amilasa 405

AA

Nr kat. 1021404 Nr kat. 1009603
 Nr kat. 1009243 Nr kat. 1009910
 Nr kat. 1009326 Nr kat. 1008142

Kinetyczna metoda przy 405 nm dla oznaczania amylazy w surowicy, osoczu, lub moczu. Substrat CNPG3

WSTĘP

Amylaza jest głównie produkowana przez trzustkę jako wydzielina egzokrynną oraz przez ślinianki, trawi wiązania α -1-4 glikozydowe polisacharydów (skrobi i glikogenu). Poziom amylazy wzrasta u pacjentów z ostrym zapaleniem trzustki, osiągając najwyższe wartości pomiędzy 24 a 30 godziną od rozpoczęcia się procesu i powraca do normy w ciągu następnych 24 do 48 godzin. W takich sytuacjach pojawia się również zwiększone wydzielanie enzymu z moczem, hyperamylazuria trwająca od 3 do 5 dni, podczas gdy poziom w surowicy krwi osiąga wartości prawidłowe. Podniesione wartości możemy otrzymać również w przypadku "ostrego brzucha" czy operacji jamy brzusznej w okolicy trzustki. Ponadto bakteryjne zapalenia przyusznic jak i nagminne zapalenie przyusznic, które prowadzi do upośledzenia wydzielania amylazy ślinowej także prowadzą do wzrostu enzymu w surowicy krwi.

ZASADA DZIAŁANIA

α -amylaza hydrolizuje 2-chloro-p-nitrofenylo- α -D-maltotriozyd (2-chloro-p-nitrophenyl- α -D-mal-totrioxide CNP-G3) uwalniając 2-chloro-p-nitrofenol (CNP), 2-chloro-p-nitrofenylo- α -D-maltozę (CNP-G2), maltotriozę (G3) i glukozę. CNP absorbuje długość fali 405 nm i pojawianie się koloru jest wprost proporcjonalne do aktywności enzymatycznej. Zastosowanie substratu końcowego, substancji o znanej strukturze i masie cząsteczkowej, pozwala na podanie wyniku w U/l i nie wymaga zastosowania dodatkowych enzymów.

DOSTARCZONE ODCZYNNIKI

A. Odczynnik A: roztwór zawierający 2,25 mmol/l CNP-G3, 5 mmol/l chlorku wapnia, 70 mmol/l chlorku sodu, 900 mmol/l rodniku potasu i MES bufor pH 6, 100 mmol/l.

INSTRUKCJA UŻYCIA

Odczynnik A: gotowy do użycia.

OSTRZEŻENIA

Odczynnik A wyłącznie do użycia "in vitro". H319 Działa drażniąco na oczy. P262 Chronić przed kontaktem ze skórą, oczami i odzieżą. P305 + P351 + P338 W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać. P302 + P352 W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ: Umyć dużą ilością wody z mydłem. P280 Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy. Stosować odczynniki zgodnie z procedurami dla laboratoriów

klinicznych.

Odczynniki i materiał badany powinni być odrzucone zgodnie z lokalnymi przepisami.

TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Dostarczone odczynniki: stabilne w lodówce (2-10°C) do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu.

BRAK TRWAŁOŚCI I POGORSZENIE JAKOŚCI ODCZYNNIKÓW

W Odczynniku A może pojawić się zabarwienie żółtawe i nie wpływa to na jakość testu. Należy podejrzewać pogorszenie jakości Odczynnika A gdy absorbancja jest wyższa od 0,500 O.D. (405 nm) po ustawieniu aparatu na zero przy wodzie destylowanej.

MATERIAŁ BADANY

Surowica, osocze z heparyną lub mocz.

a) Pobranie: pobrać zwykłą metodą jeśli używana jest surowica. Oddzielić surowicę od skrzepu jak najszybciej. W przypadku użycia osocza, należy pobrać na heparynę. Jeśli używany jest mocz, analiza może być wykonana na dowolnej próbce moczu.

b) Substancje dodatkowe: w przypadku użycia osocza, pobrać krew na heparynę. Jeśli używany jest mocz, patrz punkt d).

c) Znane interakcje: nie obserwuje się interakcji przy: bilirubinie do poziomu 22 mg/dl (220 mg/l), hemoglobinie do poziomu 180 mg/dl, trójglicerydów do poziomu 1400 mg/dl (14 g/l), przy heparynie do poziomu 50 U/ml. Nie używać kwasu chlorowodorowego jako konserwantu przy badaniu moczu. Sprawdź źródło: Young, D.S. w sprawie wpływu leków w tej metodzie.

d) Trwałość i warunki przechowywania: w surowicy, amylaza jest stabilna przez jeden tydzień w temperaturze pokojowej (pod warunkiem uniknięcia zanieczyszczenia bakteryjnego) lub przez kilka miesięcy w lodówce. Jeśli analizowana próbka moczu nie jest badana w tym samym dniu, wskazana jest zmiana pH na ok. 7 (wodorotlenkiem sodowym) z kwaśnego pH w którym dochodzi do nieodwracalnego zahamowania aktywności enzymu. Przy pH 7 próbkę będzie można przechowywać przynajmniej przez 10 dni w lodówce bez utraty aktywności, pod warunkiem uniknięcia zanieczyszczenia bakteryjnego.

WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT (niedostarczane)

- spektrofotometr,
- mikropipety i pipety do pomiaru objętości,
- kuwety spektrofotometryczne,
- łaźnia wodna dla wybranej temperatury reakcji,
- stoper.

WARUNKI DLA PRZEPROWADZENIA TESTU

- długość fali: 405 nm,
- temperatura reakcji: 25, 30 lub 37°C,
- czas reakcji: 2 min.

PROCEDURA

A) 25-30°C

W kuwecie w wybranej temperaturze umieścić:

Odczynnik A 2 ml

Inkubować wstępnie przez 3-4 minuty. Następnie dodać:

Materiał 100 ul

Natychmiast wymieszać i odczytać absorbancję po 1 i 2 minutach. Ustalić różnicę pomiędzy drugim a pierwszym odczytem. Użyć tę wartość do obliczeń. Objętości mogą być proporcjonalnie zmniejszone przy użyciu 1 ml Odczynnika A i 50 ul Materiału.

B) 37°C

W tej temperaturze aktywność jest najwyższa, zastosować 50 ul Materiału Postępować jak w procedurze wskazanej w A). Objętości mogą być zredukowane używając 1 ml Odczynnika A i 20 ul Materiału.

OBLICZENIA

Amylaza (U/l) = $\Delta A/\text{min} \times \text{współczynnik}^*$

Temperatura	Odczynnik A	Materiał badany	Współczynnik
25-30°C	2 ml	100 ul	1628
	1 ml	50 ul	1628
37°C	2 ml	50 ul	3178
	1 ml	20 ul	3953

*Współczynniki obliczane są zgodnie z następującą regułą:

$$\text{współczynnik} = \frac{TV}{SV \times b \times \epsilon_{\text{CNP}} \times 10^{-3}}$$

gdzie:

TV: total volume - całkowita objętość

SV: sample volume - objętość materiału

b: light pass - przechodzące światło

ϵ_{CNP} : CNP milimolar absorption coefficient - współczynnik absorbancji milimolowej

dla CNP przy długości fali 405 nm.

10^{-3} : conversion factor - współczynnik konwersji (milimol do mikromol)

METODA KONTROLI JAKOŚCI

W trakcie przeprowadzania badania za każdym razem należy przeprowadzić analizę jakości na dwóch poziomach (**Standatrol S-E 2 niveles**) ze znaną aktywnością amylazy.

WARTOŚCI REFERENCYJNE

Temperatura	25°C	30°C*	37°C
Surowica aż do	84 U/l	100 U/l	125 U/l
Dowolna próbka moczu aż do **	455 U/l	540 U/l	680 U/l

* Wartości obliczone

** Powyższe objętości referencyjne zostały otrzymane na zdrowej populacji (n=40), u obu płci, w wieku pomiędzy 17 a 40 rokiem życia, przy zwykłej diecie oraz bez objawów chorobowych.

Zaleca się dla każdego laboratorium ustalenie własnych wartości referencyjnych.

KONWERSJA JEDNOSTEK SI

Amylaza (U/l) x 0,017 = Amylaza (ukat/l)

OGRANICZENIA PROCEDURY

Patrz znane interakcje z innymi substancjami w rozdziale Materiał. Nie pipetować ustami.

Zabrudzenia odczynnika A śliną stanowią przyczynę fałszywych wyników, z powodu wysokiej aktywności amylazy. W takim przypadku nie używać Odczynnika.

Unikać kontaktu z elementami gumowymi (gumowe uszczelki, przykrywki) które pogarszają jakość Odczynnika A.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

a) **Powtarzalność:** równocześnie w tym samym dniu ten sam materiał został poddany badaniu, otrzymano następujące wartości:

Poziom	S.D.	C.V.
51 U/l	± 0,978 U/l	1,9 %
467 U/l	± 2,139 U/l	0,46 %

b) **Czułość:** zależy od używanego fotometru. W spektrofotometrze przy długości fali 405 nm (z kuwetą kwadratową o długości optycznej 1cm) dla $\Delta A/\text{min}$ 0,001, najmniejsza wykrywalna zmiana aktywności wynosi 4 U/l (w temp. 37°C).

c) **Linijność:** reakcja jest liniowa do 2000 U/l aktywności amylazy. Dla wyższych wartości należy rozcieńczyć materiał roztworem soli fizjologicznej, powtórzyć badanie i pomnożyć wynik przez współczynnik rozcieńczenia.

PARAMETRY DLA ANALIZATORÓW AUTOMATYCZNYCH

Należy zapoznać się z instrukcją obsługi celem programowania analizatorów automatycznych.

WIENER LAB DOSTARCZA


- 1 x 37 ml (Nr kat. 1008142).
- 3 x 10 ml (Nr kat. 1021404).
- 3 x 10 ml (Nr kat. 1009326).
- 4 x 20 ml (Nr kat. 1009243).
- 4 x 20 ml (Nr kat. 1009603).
- 4 x 20 ml (Nr kat. 1009910).


ŹRÓDŁA


- Rauscher, E. et al - Clin. Chem. 31/1:14, 1985.
- Tietz, N. - Clinical Guide to Laboratory Tests - W.B. Saunders Co., 1983.
- Lorenzo, L.; Demaría, I.; Setta, F.; Taborda, M. - 44th National Meeting, AACC, 19-23 julio, 1992, Chicago, Illinois. Clin. Chem. 38/6:935, Abs. 3, 1992.
- Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular - Química Clínica 15/1:51, 1996.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- NCCLS document "Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods", EP6-P (1986).


SÍMBOLOS // SÍMBOLOS // SYMBOLS // OZNACZENIA

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab. // Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab. // The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits. // Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.


 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"// Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"// This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices// Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea// Representante autorizado na Comunidade Europeia// Authorized representative in the European Community// Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej

 Uso diagnóstico "in vitro"// Uso médico-diagnóstico "in vitro"// "In vitro" diagnostic medical device// Wyrób do diagnostyki "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos// Conteúdo suficiente para <n> testes// Contains sufficient for <n> tests// Zawartość wystarczająca dla <n> badań

 Fecha de caducidad// Data de validade// Use by// Użyć przed


 Límite de temperatura (conservar a)// Limite de temperatura (conservar a)// Temperature limitation (store at)// Ograniczenie dopuszczalnych temperatur

 No congelar// Não congelar// Do not freeze// Nie zamrażać

 Riesgo biológico// Risco biológico// Biological risks// Ryzyko biologiczne

 Volumen después de la reconstitución// Volume após a reconstituição// Volume after reconstitution// Objętość po rozpuszczeniu

 Contenido// Conteúdo// Contents// Zawartość

 Número de lote// Número de lote// Batch code// numer serii

 Elaborado por:// Elaborado por:// Manufactured by:// Wytwórca

 Nocivo// Nocivo// Harmful// Substancja szkodliwa

 Corrosivo / Cáustico // Corrosivo / Caústico // Corrosive / Caustic// Substancja żrące

 Irritante// Irritante// Irritant// Substancja drażniąca

 Consultar instrucciones de uso// Consultar as instruções de uso// Consult instructions for use// Przed użyciem zapoznać się z instrukcją

 Calibrador// Calibrador// Calibrator// Kalibrator


 Control// Controle// Control// Próba kontrolna

 Control Positivo// Controle Positivo// Positive Control// Próba kontrolna dodatnia

 Control Negativo// Controle Negativo// Negative Control// Próba kontrolna ujemna

 Número de catálogo// Número de catálogo// Catalog number// Numer katalogowy

IVD

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
PM-1102-196



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina