AMYLASE

CE IVD Per uso diagnostico in vitro
REF **10202 - 20x3 ml**
10201 - 3x20 ml

Kit per la determinazione dell'amilasi nel siero, plasma e urina
Metodo cinetico colorimetrico PNPG7 bloccato

PRINCIPIO
L'amilasi idrolizza il PNPG7 in polimeri del glucosio e p-nitrofenil oligosaccaridi a catena corta. Questi ultimi vengono ulteriormente idrolizzati dalla alfaglucosidasi e dalla gluco-amilasi per produrre, tra gli altri, p-nitrofenolo che assorbe a 405 nm.

REATTIVI - Concentrazione iniziale
R1 Tampone PIPES pH 6.0 50.0 mmol/l; sodio cloruro 50.0 mmol/l; calcio cloruro 1.0 mmol/l;
R2 PNPG7 5.0 mmol/l; glucoamilasi ≥ 4000 U/l; alfa-glucosidasi ≥ 10000 U/l

CAMPIONI
Siero, plasma con eparina, urina.
L'urina deve essere diluita 1:3 con soluzione fisiologica.
Note
- Non utilizzare campioni emolizzati.
- L'amilasi è stabile nei campioni fino a 60 giorni a 2-8°C.

VALORI DI RIFERIMENTO

Siero - plasma	sino a 90 U/l
Urina 24h	sino a 450 U/l

I valori di riferimento sono da considerarsi indicativi in quanto ogni laboratorio dovrebbe ricercare quelli della popolazione su cui opera. I risultati del test dovrebbero essere interpretati unitamente alle informazioni derivanti dalle valutazioni cliniche del paziente.

PREPARAZIONE DEI REATTIVI
Sciogliere il contenuto del flacone **R2** con:
conf. 3 ml: 3 ml del flacone **R1**
conf. 20 ml: 20 ml del flacone **R1**
Togliere i reattivi dal frigo solo il tempo necessario per il loro utilizzo e richiuderli subito dopo.

CONSERVAZIONE E STABILITÁ
- Conservare il kit a 2-8°C. Non congelare i reattivi.
- Stabilità del reattivo ricostituito: 21 giorni a 2-8°C

NOTE
- Il kit con la presente metodica deve essere utilizzato in manuale. Per l'utilizzo in automatico consultare le applicazioni specifiche.
- Valutare attentamente i risultati se l'estinzione del reattivo è > 0.400 a 405 nm.
- Evitare di esporre il reattivo alla luce diretta, contaminazione ed evaporazione.
- I volumi indicati nel procedimento possono essere variati proporzionalmente.
- In caso di reclamo o di richiesta del controllo di qualità del presente kit, indicare il numero di lotto riportato sulla confezione o, in alternativa, il numero di lotto dei singoli componenti.

MATERIALI AUSILIARI
Materiali necessari non contenuti nel kit: soluzioni diluenti, vetreria e monouso, sistemi di dosaggio e misurazione, calibratori per la taratura degli strumenti.

CONTROLLO DI QUALITÁ
É necessario eseguire i controlli ad ogni utilizzo del kit e verificare che i valori ottenuti siano inclusi nell'intervallo di riferimento riportato nelle istruzioni d'uso.
Sieri consigliati:
REF 20350 Precise Norm **REF** 20360 Precise Path

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE
Il prodotto non è classificato come sostanza pericolosa (DLg. N.285 art.28 Legge n.128 del 1998). La concentrazione totale dei componenti è inferiore ai limiti riportati dalle Direttive 67/548/CEE e 88/379/CEE e successive modifiche sulla classificazione, imballaggio ed etichettatura delle sostanze pericolose.
É consigliabile tuttavia maneggiare il prodotto con cautela secondo le norme di buona pratica di laboratorio.
Attenzione: i reattivi contengono Sodio Azide (0.095%) come conservante. Evitare l'ingestione ed il contatto con pelle, occhi e mucose.

SMALTIMENTO RIFIUTI
Il prodotto deve essere smaltito secondo le locali normative in materia di gestione dei rifiuti.

PROCEDIMENTO

Lunghezza d'onda	λ: 405 (400-440) nm
Temperatura di lavoro	37°C (30°C)
Cammino ottico	1 cm
Tipo di reazione	cinetica (in incremento)

Portare il reattivo a 15-25°C prima dell'utilizzo.

CAMPIONE (*)	25 µl
REATTIVO	1000 µl

Agitare e, dopo 1 min. a 37°C, leggere i valori di estinzione al tempo 0 e dopo 1, 2, 3 minuti. Calcolare l'incremento medio di assorbanza per minuto (ΔA/min).

(*) Nel caso di test unitario (Ref. 10202)

CAMPIONE	75 µl
REATTIVO	3000 µl

CALCOLO

Amilasi nel siero [U/l] = ΔA/min x 4824
Amilasi nelle urine [U/l] = ΔA/min x 14472

Il fattore e le prestazioni del reattivo sono riferite a 37°C e 405 nm.

PRESTAZIONI DEL REATTIVO

Interferenze
La bilirubina non interferisce con il test sino alla concentrazione di 40 mg/dl.
I trigliceridi non interferiscono sino alla concentrazione di 1500 mg/dl.
L'emoglobina non interferisce sino alla concentrazione di 500 mg/dl.

Linearità
La reazione è lineare sino alla concentrazione di 1200 U/l (corrispondente ad un ΔA/min di 0.48). Campioni superiori a 1200 U/l devono essere diluiti con soluzione fisiologica. Moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

Precisione "intra-Assay" (NELLA SERIE)
Determinata su 30 replicati per ciascun controllo (L-N-H) (Low-Normal-High). Risultati ottenuti:

MEDIA	[U/l]	L = 86.65	N = 167.54	H = 527.95
D.S.		1.70	2.82	9.20
C.V.%		1.96	1.68	1.74

Precisione "inter-Assay" (FRA LE SERIE)
Determinata su 15 replicati per ciascun controllo (L-N-H) per 3 giorni. Risultati ottenuti:

MEDIA	[U/l]	L = 86.46	N = 166.71	H = 514.71
D.S.		2.67	3.70	11.80
C.V.%		3.08	2.22	2.30

Sensibilità analitica
Soglia di sensibilità espressa dal metodo: 6 U/l.

Correlazione
Un metodo equivalente preso a riferimento, correlato su 21 campioni con il reattivo in esame, ha dato un fattore di correlazione **r = 0.96**

BIBLIOGRAFIA

Ranson, J.C.H., Curr. Prob. Surg., 16:1, (1979). Salt, W.B. II, Schnker, S. Medicine, 55; 269, (1976). Stefanini, P., Ermini, M., J. Am.Surg., 110; 866, (1965).
Henry, R.J., Chiamori, N., Clin. Chem., 6; 434, (1961).
Kaufman, R.A., Tietz, N.W., Clin. Chem., 26; 486, (1980).
Fenton J., Foery R., Clin. Chem. (1982), 28, 704.
Lorenz K., J. Clin. Chem. Biochem. (1983), 21, 463.
Kaplan LA, Pesce AJ: "Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1996).

SIMBOLOGIA

Consultare istruzioni per l'uso
Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79/CE)
Limiti temperatura di conservazione
IVD **Dispositivo medico-diagnostico in vitro** **Fabbricante**

AMYLASE

CE IVD For in vitro medical device
REF **10202 - 20x3 ml**
10201 - 3x20 ml

Kit for measurement of amylase in serum, plasma and urine
Kinetic colorimetric method PNPG7 blocked

PRINCIPLE
Amylase hydrolizes the PNPG7 into glucose polymers and p-nitrophenol-oligosaccharides with short chain. These ones are further hydrolyzed by α-glucosidase and by glucoamylase to release p-nitrophenol which absorbs at 405 nm.

REAGENTS
R1 PIPES buffer pH 6.0 50.0 mmol/l; sodium chloride 50.0 mmol/l; calcium chloride 1.0 mmol/l
R2 PNPG7 5.0 mmol/l; glucoamylase ≥ 4000 U/l; α-glucosidase ≥ 10000 U/l

SAMPLE
Serum or heparinized plasma. Urine.
Urine must be diluted 1:3 with physiological solution.

Note
- Do not use samples with haemolysis.
- The amylase is stable up to 60 days at 2-8°C.

REFERENCE VALUES

Serum - plasma	up to 90 U/l
Urine 24h	up to 450 U/l

References values are considered indicatives since each laboratory should establish references ranges for its own patient's population. The analytical results should be evaluated with other information coming from patient's clinical story.

PREPARATION OF REAGENTS
Dissolve the content of **R2** vial with:
vial 3 ml: 3 ml of **R1** solution
vial 20 ml: 20 ml of **R1** solution
Keep out the reagent from refrigerator only for the use and recap it immediately.

STORAGE AND STABILITY
- Store the kit at 2-8°C. Do not freeze the reagents.
- Reconstituted reagent stability: 21 days at 2-8°C.

NOTE
- The kit, according to this method, must be used in manual procedures. About automatic using follow specific applications.
- Evaluate carefully the results if reagent absorbance is > 0.400 at 405 nm.
- Avoid direct light, contamination and evaporation.
- The volumes in the procedure can be changed proportionally.
- In case of complaint or quality control request, refer to the lot number on the package or the lot number on the singles vials.

AUXILIARY EQUIPMENT
Materials not included in the kit: diluent solutions, laboratory glassware, disposable tips, photometers and calibrators.

QUALITY CONTROLS
It's necessary, every time the kit is used, to make the quality controls and to check that values obtained are within the acceptance range provided in the insert.
Suggested serum:
REF 20350 Precise Norm **REF** 20360 Precise Path

PRECAUTION IN USE
The product is not classified as dangerous (DLg. N. 285 art. 28 l. n. 128/1998). The total concentration of components is lower than the limits reported by 67/548 and 88/379 CE Regulations (and following modifications) about classification, packaging and labelling of dangerous substances.
However the reagent should be handled with caution, according to good laboratory practice.
Caution: the reagents contain Sodium Azide (0.095%) as preservative. Avoid swallowing and contacting with skin, eyes and mucous membranes.

WASTE MANAGEMENT
Please refer to the local legal requirements.

PROCEDURE

Wavelength	λ: 405 (400-440) nm
Working temperature	37°C (30°C)
Optical path	1 cm
Reaction	Kinetic (increasing)

Bring the reagent at 15-25°C before using it.

SAMPLE (*)	25 µl
REAGENT	1000 µl

Mix, and after 1' at 37°C, measure the initial absorbance and at 1 minute intervals thereafter for 3 minutes. Calculate the difference between consecutive absorbances, and the average absorbance difference per minute (ΔA/min).

(*) In case of unitary test (Ref. 10202):

SAMPLE	75 µl
REAGENT	3000 µl

CALCULATION

Amylase in serum [U/l] = ΔA/min x 4824
Amylase in urine [U/l] = ΔA/min x 14472

The factor and the reagent performances are related to 37°C and 405 nm.

ANALYTICAL PERFORMANCES

Interferences
Bilirubin does not interfere up to concentration of 40 mg/dl.
Triglycerides do not interfere up to concentration of 1500 mg/dl.
Hemoglobin does not interfere up to concentration of 500 mg/dl.

Linearity
Reaction is linear up to a concentration of 1200 U/l (corresponding to ΔA/min of 0.48). Samples with values exceeding 1200 U/l must be diluted with saline solution. Multiply, then, the result for diluting factor.

"Intra-Assay" precision (within-Run)
Determined on 30 samples for each control (L-N-H) (Low-Normal-High).
Results:

MEAN	[U/l]	L = 86.65	N = 167.54	H = 527.95
S.D.		1.70	2.82	9.20
C.V.%		1.96	1.68	1.74

"Inter-Assay" precision (between-run)
Determined on 15 samples for each control (L-N-H) for 3 days.
Results:

MEAN	[U/l]	L = 86.46	N = 166.71	H = 514.71
S.D.		2.67	3.70	11.80
C.V.%		3.08	2.22	2.30

Analytical sensitivity
The test sensitivity in terms of detection limit is 6 U/l.

Correlation
A study based comparing this method with a similar method on 21 samples has given a correlating factor **r = 0.96**

BIBLIOGRAPHY
Ranson, J.C.H., Curr. Prob. Surg., 16:1, (1979). Salt, W.B. II, Schnker, S. Medicine, 55; 269, (1976). Stefanini, P., Ermini, M., J. Am.Surg., 110; 866, (1965). Henry, R.J., Chiamori, N., Clin. Chem., 6; 434, (1961).
Kaufman, R.A., Tietz, N.W., Clin. Chem., 26; 486, (1980).
Fenton J., Foery R., Clin. Chem. (1982), 28, 704.
Lorenz K., J. Clin. Chem. Biochem. (1983), 21, 463.
Kaplan LA, Pesce AJ: "Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1996).

SYMBOLS

Read instruction for use
CE mark (requirement of 98/79 regulation)
Storaging temperature limits
In vitro medical device **Producer**