

Pankreatische Amylase ELISA Kit

*Zur in vitro Bestimmung der Humanen pankreatischen Amylase
in Stuhl*

Pancreatic amylase ELISA Kit

*For the in vitro determination of human pancreatic amylase in
stool*

Gültig ab/valid from 15.11.2004

Artikelnummer/Catalogue No.: K 6410

Packungsgröße/Package size: 96 Tests/96 determinations

Lagerung/Storage: 2 - 8 °



| | |
|---|------------|
| Inhaltsverzeichnis | Seite/Page |
| Table of contents | 2 |
| 1. VERWENDUNGSZWECK | 3 |
| 2. EINLEITUNG | 3 |
| 3. TESTPRINZIP | 3 |
| 4. INHALT DER TESTPACKUNG | 4 |
| 5. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL | 4 |
| 6. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN | 5 |
| 7. HINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN | 6 |
| 8. VORBEREITUNG DES PROBENMATERIALS | 6 |
| 9. TESTDURCHFÜHRUNG | 7 |
| HINWEISE | 7 |
| PIPETTIERSHEMA | 7 |
| 10. ERGEBNISSE | 8 |
| MUSTEREICHKURVE | 8 |
| 11. EINSCHRÄNKUNGEN | 9 |
| 12. QUALITÄTSKONTROLLE | 9 |
| ERWARTETE ERGEBNISSE | 9 |
| 13. TESTCHARAKTERISTIKA | 10 |
| SENSITIVITÄT | 10 |
| 14. LITERATUR | 10 |
| 15. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST | 11 |

| | |
|---|------------|
| Table of content | Seite/Page |
| | 2 |
| 1. INTENDED USE | 13 |
| 2. SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST | 13 |
| 3. PRINCIPLE OF THE TEST | 13 |
| 4. MATERIAL SUPPLIED | 14 |
| 5. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED | 14 |
| 6. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS | 15 |
| 7. PRECAUTIONS | 15 |
| 8. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION | 16 |
| FAECES | 16 |
| 9. ASSAY PROCEDURE | 16 |
| PROCEDURAL NOTES | 16 |
| TEST PROCEDURE | 17 |
| 10. RESULTS | 18 |
| TYPICAL CALIBRATION CURVE | 18 |
| 11. LIMITATIONS | 19 |
| 12. QUALITY CONTROL | 19 |
| EXPECTED VALUES | 19 |
| 13. PERFORMANCE CHARACTERISTICS | 20 |
| SENSITIVITY | 20 |
| 14. REFERENCES | 20 |
| 15. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE | 21 |

1. VERWENDUNGSZWECK

Der hier beschriebene Assay ist für die Bestimmung von **Pankreatischer Amylase** aus Stuhl. Nur zur in vitro Diagnostik.

2. EINLEITUNG

Die **Pankreas Amylase** wird wie die Lipase und Elastase vom Pankreas synthetisiert.

Einige Krankheitsbilder sind mit einer Pankreasinsuffizienz assoziiert (Alkoholismus, Unfalltrauma, Fibrose).

In der Laborroutine bestätigt sich die **Pankreatische Amylase** als echte Alternative zur Elastase-I in der Stuhldiagnostik.

Indikation:

- Chronische Pankreatitis

3. TESTPRINZIP

Dieser Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay (ELISA) dient zur quantitativen Bestimmung der **pankreatischen Amylase** im Stuhl. In diesem ELISA wird die **pankreatische Amylase** aus den Proben an die auf Mikrotiterplatten fixierte Antikörper (Fangantikörper) gebunden. Gebundene pankreatische Amylase wird mit einem POD-markiertem monoklonalen Antikörper umgesetzt. Die gebundene Peroxidase menge ist dem Amylase-Gehalt direkt proportional. Als Substrat wird TMB eingesetzt. Die entstandene chromogene Verbindung kann photometrisch bei 450 nm gemessen werden.

4. INHALT DER TESTPACKUNG

| Artikel Nr. | Kit Komponenten | Menge |
|-------------|--|------------|
| K 6410MTP | Mikrotiterplatte, vorbeschichtet | 96 |
| K 6410WP | ELISA Waschpufferkonzentrat 10x | 2 x 100 ml |
| K 6410K | Konjugat (Maus anti Amylase, peroxidase-markiert) | 1 x 30 µl |
| K 6410ST | Standards, lyophilisiert (0; 440; 1750; 7000; 28000 mU/l) | 5 vials |
| K 6410 KO | Kontrolle, lyophilisiert | 1 vial |
| K 6410TMB | TMB Substrat (Tetramethylbenzidin), gebrauchsfertig | 1 x 15 ml |
| K 6410AC | ELISA Stopplösung, gebrauchsfertig | 1 x 7 ml |

Auf Wunsch erhalten Sie bei Bedarf 3 weitere Standardsets kostenlos. Jedes weitere Standardset wird berechnet.

5. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- 1,5 ml Reaktionsgefäße (z.B. Eppendorf-Hütchen)
- div. Pipetten. Beim Arbeiten mit kleinen Volumina ist auf die Verwendung geeichter Pipetten und auf besonders sorgsamem Umgang zu achten (z. B. Pipettenspitze nach der Entnahme abstreifen).
- Zentrifuge
- ELISA-Reader
- Schüttler für Mikrotiterplatten

6. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

- Beim Mehrfachansatz der Platte ist bitte darauf zu achten, daß die Reagenzien wie in der Vorschrift beschrieben gelagert werden und **nur die für den jeweiligen Ansatz benötigten Reagenzienmengen frisch angesetzt werden**. Der Kit kann so bis zu 4 x innerhalb des angegebenen Verfallsdatums angesetzt werden.
- Reagenzien mit einem **Volumen kleiner 100 µl** sollten vor Gebrauch kurz anzentrifugiert werden, um Volumenverluste zu vermeiden.
- Das **Waschpufferkonzentrat** muß vor Gebrauch **1:10** in aqua dest. verdünnt werden (100 ml Konzentrat + 900 ml aqua dest). Aufgrund der hohen Salzkonzentration in den Konzentraten kann es zu Kristallbildungen kommen. Die Kristalle lösen sich bei Raumtemperatur auf. Das **Pufferkonzentrat** kann bei **2-8°C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum aufbewahrt werden. Die **verdünnte Pufferlösung** ist bei **2-8 °C 1 Monat** (in einem geschlossenen Gefäß) haltbar.
- Die **lyophilisierten Standards** und die **lyophilisierte Kontrolle** müssen mit **250 µl aqua dest.** rekonstituiert werden. Um eine vollständige Lösung der Standards und der Kontrolle zu gewährleisten müssen sie mindestens **10 min** bei Raumtemperatur unter gelegentlichem Mischen rekonstituiert werden.
- Der **POD-Antikörper** wird **1:1000** in Waschpuffer verdünnt (10 µl POD-Antikörper in 10 ml Waschpuffer pipettieren). Der **unverdünnte POD-Antikörper** ist bei **2-8°C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum stabil. Die **verdünnte Antikörperlösung kann nicht aufbewahrt werden**.

7. HINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN

- Standards und Kontrollen sind auf Humanserum aufgebaut. Sie sind auf HIV und Hepatitis B getestet und für negativ befundet worden. Jedoch sollten die Testkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material behandelt werden.
- Die Stopplösung besteht aus verdünnte H_2SO_4 . H_2SO_4 ist eine starke Säure und muß auch im verdünnten Zustand mit Vorsicht behandelt werden. H_2SO_4 verursacht bei Kontakt mit der Haut Verätzungen. Es sollte daher mit Schutzhandschuhen und Schutzbrille gearbeitet werden. Bei Kontakt mit der Säure muß die verätzte Stelle sofort mit viel Wasser gespült werden.

8. VORBEREITUNG DES PROBENMATERIALS

Stuhlproben

Ca. **100 mg** Stuhl einwiegen (die genau eingewogene Stuhlmenge notieren) und in **5 ml** des Waschpuffers lösen (sehr gut mischen). Danach wird die Suspension für 10 Minuten bei 3000 rpm zentrifugiert. 1 ml des Überstandes wird abgenommen, in ein Eppendorfröhrchen überführt und ein weiteres Mal in einer Eppendorfzentrifuge bei 13000 rpm für 5 min. zentrifugiert.

Der Überstand wird vor jedem Testansatz für **2 Minuten** bei 13000 rpm in der Eppendorfzentrifuge zentrifugiert und anschließend 1:40 mit dem Waschpuffer weiterverdünnt (z.B. 25 µl Überstand + 975 µl Waschpuffer). Von dieser Endverdünnung werden dann **100 µl** in den Test eingesetzt.

Wir empfehlen den Stuhl für jede Messung frisch einzuwiegen. Stuhlsuspensionen können nicht gelagert werden.

Stuhlproben können bei $-20^{\circ}C$ 4 Wochen gelagert werden. Mehrfaches Einfrieren und Auftauen ist zu vermeiden.

Zur einfacheren Dosierung und Homogenisierung des Probenmaterials empfehlen wir das Probenvorbereitungssystem der Fa. Roche Diagnostics/Mannheim (Best. Nr. 745804).

9. TESTDURCHFÜHRUNG

Hinweise

- Reagenzien der Testpackung dürfen nicht mit anderen Chargen gemischt werden.
- Qualitätskontrollen sollten immer mitgemessen werden.
- Inkubationszeit, Temperatur und Pipettiervolumen sind vom Hersteller festgelegt. Jegliche Abweichung der Testvorschrift, die nicht mit dem Hersteller koordiniert wurde, kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Immundiagnostik übernimmt keine Haftung.

Pipettierschema

Die vorbeschichtete Mikrotiterplatte vor Gebrauch **5x mit je 250 µl** Waschpuffer waschen. Mikrotiterplatte nach dem letzten Waschgang auf Saugpapier ausschlagen.

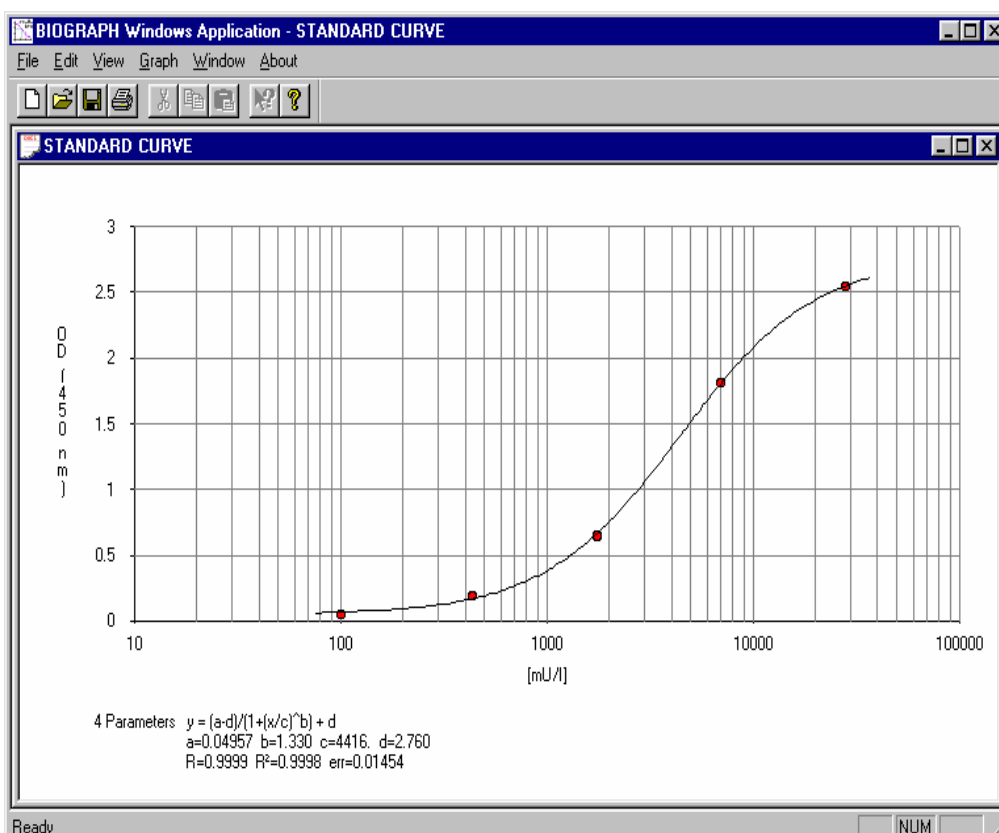
Die Bestimmungen sind in der Mikrotiterplatte in Doppelwerten durchzuführen.

1. **100 µl** Standards und vorbereitete Proben pro Vertiefung in Doppelwerten pipettieren.
2. **1 Stunde** bei Raumtemperatur unter Schütteln inkubieren.
3. Den Inhalt der Platte verwerfen und **5 x mit je 250 µl** Waschpuffer waschen. Mikrotiterplatte nach dem letzten Waschgang auf Saugpapier ausschlagen.
4. **100 µl** POD-Antikörper (Detektionsantikörper) in jede Vertiefung pipettieren.
5. **1 Stunde** bei Raumtemperatur unter Schütteln inkubieren.
6. Den Inhalt der Platte verwerfen und **5 x mit je 250 µl** Waschpuffer waschen. Mikrotiterplatte nach dem letzten Waschgang auf Saugpapier ausschlagen.
7. **100 µl** TMB-Substratlösung pro Vertiefung pipettieren.
8. **5-15 Minuten** (entsprechend der Farbdifferenzierung) bei Raumtemperatur inkubieren.
9. **50 µl** Stopplösung pro Vertiefung zugeben und kurz mischen.
10. Bestimmung der Extinktion im ELISA-Reader bei **450 nm**.

10. ERGEBNISSE

Zur Auswertung des Testes empfehlen wir die 4-Parameter-Funktion. Alternativ kann auch eine Punkt-zu-Punkt-Auswertung oder eine gewichtete Spline-Funktion gewählt werden. Vor jeder automatischen Auswertung sollte stets eine Kontrolle der Doppelwerte auf Plausibilität („Ausreißerkontrolle“) durchgeführt werden; falls dies nicht durch das verwendete Programm erfolgt, sollte diese der Operator durchführen.

Mustereichkurve



| | | | | | |
|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Konzentration [mU/l] | 0 | 440 | 1750 | 7000 | 28000 |
| OD Mittelwert | 0.005 | 0.195 | 0.651 | 1.812 | 2.544 |

Die hier aufgeführten Ergebnisse sind ein Beispiel für eine Standardkurve. Sie dürfen nicht für die Auswertung des Assays verwendet werden.

Stuhlproben:

Die ermittelte Pankreatische Amylase Konzentration der Stuhlprobe wird wie im folgendem Beispiel berechnet:

Einwaage: 80 mg (1ml Stuhl = 1g) = 0,08 ml

Verdünnungsstufe 1: 5ml / 0,08ml = 62,5

Verdünnungsstufe 2: 40

Verdünnungsfaktor: 62,5 x 40 = 2500

Die ermittelte Stuhlkonzentration wird mit **2500** multipliziert, um die tatsächliche Konzentration zu ermitteln. **Der Faktor ändert sich mit der Einwaage der Stuhlprobe.**

11. EINSCHRÄNKUNGEN

Proben mit einer Pankreatischer Amylase Konzentration größer dem größten Standard sollten mit Waschpuffer verdünnt werden und nochmals im Assay eingesetzt werden.

12. QUALITÄTSKONTROLLE

Wir empfehlen die Kontrollen oder Serum/Stuhl Pools, bei jedem Testansatz mitzumessen. Die Ergebnisse der Kontrollen müssen auf Richtigkeit überprüft werden. Liegen eine oder mehrere Kontrollen außerhalb des angegebenen Bereiches kann Immundiagnostik die Richtigkeit der Proben nicht gewährleisten.

Erwartete Ergebnisse

Normwerte:

Pankreatische Amylase (Stuhl): >1000 U/l

Graubereich: 1000 – 1500 U/l

Wir empfehlen jedem Labor einen eigenen Normbereich zu etablieren.

13. TESTCHARAKTERISTIKA

Sensitivität

Die Nachweisgrenze wurde festgelegt als $B_0 + 2 \text{ SD}$. Gemessen wurde 20 mal der Standard null.

| Probe | Pankreatische Amylase Mittelwert [OD] | Standardabweichung | Nachweisgrenze [mU/l] |
|-------|---------------------------------------|--------------------|-----------------------|
| 1 | 0.065 | 0.03 | 237 |

14. LITERATUR

1. Bishop, M. et al. (1996) *Pancreas*, 13(3):226-30
2. Katschinsky, M. et al. (1997) *Pancreas*, 15(2):1991-200

15. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST

- Dieser Kit wurde nach der IVD Richtlinie 98/79/EG hergestellt und in den Verkehr gebracht.
- Falls für die Herstellung der Testkomponenten Humansenen verwendet wurde, sind diese auf HIV und Hepatitis B getestet und für negativ befunden worden. Jedoch sollten die Testkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material behandelt werden.
- Die Testkomponenten enthalten zum Schutz vor bakteriellen Kontaminationen Natriumazid oder Thimerosal. Natriumazid/Thimerosal sind giftig. Substrate für enzymatische Farbreaktionen sind als giftig und karzinogen beschrieben. Jeder Kontakt mit der Haut oder der Schleimhaut ist zu vermeiden.
- Alle im Test enthaltenen Reagenzien dürfen ausschließlich zu wissenschaftlichen Zwecken oder, wenn vermerkt, zur in vitro Diagnostik eingesetzt werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des auf der Verpackung angegebenen Datums nicht mehr verwendet werden. Einzelkomponenten verschiedener Chargen dürfen nicht gemischt oder ausgetauscht werden.
- Für die Qualitätskontrolle sind die, für medizinische Laboratorien erstellten Richtlinien zu beachten.
- Die charakteristischen Testdaten wie Inkubationszeiten, Inkubationstemperaturen und Pipettiervolumina der verschiedenen Komponenten wurden firmenintern festgelegt. Nicht mit dem Hersteller abgesprochene Veränderungen in der Testdurchführung können die Resultate beeinflussen. Die Firma Immundiagnostik übernimmt für die hierdurch entstandenen Schäden und Folgeschäden keine Haftung.
- Bei Gewährleistungsansprüchen ist das beanstandete Material mit schriftlicher Erklärung innerhalb von 14 Tagen zum Hersteller- der Immundiagnostik zurück zu senden.

Manual

Pancreatic Amylase ELISA Kit

*For the in vitro determination of human pancreatic amylase in
stool*

Gültig ab/valid from 15.11.2004

Artikelnummer/Catalogue No.: K 6410

Packungsgröße/Package size: 96 Tests/96 determinations

Lagerung/Storage: 2 - 8 °C



1. INTENDED USE

The *Immundiagnostik* Assay is intended for the quantitative determination of **Pancreatic Amylase** in stool. For in vitro diagnostic use only.

2. SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Like lipase and elastase the **Pancreatic Amylase** is synthesized in the pancreas. In case of a chronic pancreatitis, **Pancreatic Amylase** is decreased. Some forms of disease (alcoholism, accidental trauma,) are associated with a pancreatic insufficiency. In the routine laboratory **Pancreatic Amylase** has proved itself to be a genuine alternative to Elastase-I in stool diagnosis.

Indication

- Chronic pancreatitis
- Exocrine pancreas insufficiency

3. PRINCIPLE OF THE TEST

In a first incubation step, the Pancreatic Amylase in the samples is bound to monoclonal mouse antibodies (in excess), which are immobilized to the surface of the microtitre wells. To remove all unbound substances, a washing step is carried out. In a second incubation step, an anti-Pancreatic Amylase (POD-monoclonal antibody) antibody is added. After another washing step, to remove all unbound substances, the substrate, tetramethylbenzidine (TMB) is added. An acidic stop solution is then added to stop the reaction. The colour converts from blue to yellow. The intensity of the yellow color is directly proportional to the concentration of Pancreatic Amylase in the sample. A dose response curve of the absorbance unit (optical density, OD) vs. concentration is generated, using results obtained from the calibrators. Pancreatic Amylase, present in the patient samples, is determined directly from this curve.

The combination of two specific antibodies in the Pancreatic Amylase ELISA drastically reduces the possibility of wrong-negatives results and offers a secure diagnostic system to the user.

4. MATERIAL SUPPLIED

| Catalogue No | Kit Components | Quantity |
|--------------|---|----------------|
| K 6410MTP | one holder with precoated strips | 12 x 8 |
| K 6410WB | ELISA wash buffer concentrate 10x | 2 x 100 ml |
| K 6410K | Konjugate (Maus anti-Pancreatic Amylase, peroxidase- labeled) | 1 x 30 μ l |
| K 6410ST | Calibrators, freeze dried (0; 440; 1750; 7000; 28000 mU/l) | 5 vials |
| K 6410 KO | Control, freeze dried | 1 vial |
| K 6410TMB | TMB substrate (Tetramethylbenzidine) | 1 x 15 ml |
| K 6410AC | ELISA stop solution, ready to use | 1 x 7 ml |

On demand we will send you 3 calibrator sets free of charge. Any further calibrator sets will be charged.

5. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Deionized water
- Precision pipettors calibrated to deliver 50-100 μ l
- A multi-channel dispenser or repeating dispenser
- Centrifuge capable of 3000 x g
- Vortex-Mixer
- Microplate reader 450 nm

6. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS

- To run the assay more than one time, please make sure that the reagents are carefully stored as mentioned. Prepare just the appropriate amount necessary for the assay.
- The **ELISA wash buffer concentrate** should be diluted with Aqua dest. **1:10** before use (add 900 ml A. dest. to 100 ml concentrate). Crystals could occur due to high salt concentration. The crystals have to be resuspended **before dilution of the buffer solutions** using a water bath (37°C). The buffer concentrates are stable at 2-8°C until the expiry date stated on the label. Diluted solutions could be stored at 2-8°C for 1 month.
- The **standards** and the **control** have to be reconstituted with **250 µl aqua dest.** Allow the vials to stand for **10 minutes** and then mix thoroughly by gentle inversion to insure complete reconstitution.
- The **POD antibody** has to be diluted **1:1000** in wash buffer (10 µl POD antibody and 10 ml wash buffer). The antibody is stable at 2 -4 °C until expiry date given on the label. **Diluted antibody solution is not stable and could not be stored.**
- All other test reagents are ready for use. The test reagents are stable up to the date of expiry (see label of test package) when stored at 4°C.

7. PRECAUTIONS

- For in vitro diagnostic use only.
- The calibrators and controls contain human source material which was tested and found to be non-reactive to HBsAg, anti-HIV-1/2, and anti-HCV. Since no method can offer complete assurance that hepatitis B virus, HIV-1/2, HVC or other infectious agents are absent, these reagents should be handled as if potentially infectious.
- Stop Solution consists of Sulfuric Acid. This is a strong acid. Although diluted, it still must be handled with care. It can cause burns and should be handled with gloves, eye protection, and appropriate protective clothing. Any spill should be wiped out immediately with copious quantities of water. Do not breath vapor and avoid inhalation.
- Reagents should not be used beyond the expiration date shown on kit label.

8. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Faeces

Give about **100 mg** of the sample (please note the real weight for the calculation) to **5 ml** of the wash buffer and mix. Centrifuge the diluted sample for 10 min at 3000 rpm. 1 ml supernatant is given into an eppendorf tube and centrifuged once more at 13.000 rpm for 5 min.

Afterwards the supernatant is diluted **1:40** in wash buffer (25 µl supernatant is added to 975 µl wash buffer). **100 µl** of this solution is used for the assay.

We recommend to weight out the stool samples for each run new. Supernatant is not stable and can't be stored.

Stool samples can be stored at -20°C for 4 weeks. Avoid thawing and freezing cycles.

Immundiagnostik recommends the use of the sample tubes from Roche Diagnostics for sample preparation.

9. ASSAY PROCEDURE

Procedural notes

- Do not interchange different lot numbers of any kit component within the same assay.
- The quality control guidelines should be observed.
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the different components have been defined by the producer. Any variations of the test procedure, without consulting the producer with the producer, may influence the test results. Immundiagnostik AG can therefore not be held responsible for any damage.
- Conduct the assay according to the manual delivered with the kit.

Test procedure

Wash the precoated microtiter plate 5 x with 250 µl ELISA wash buffer. Carry out the tests in duplicate.

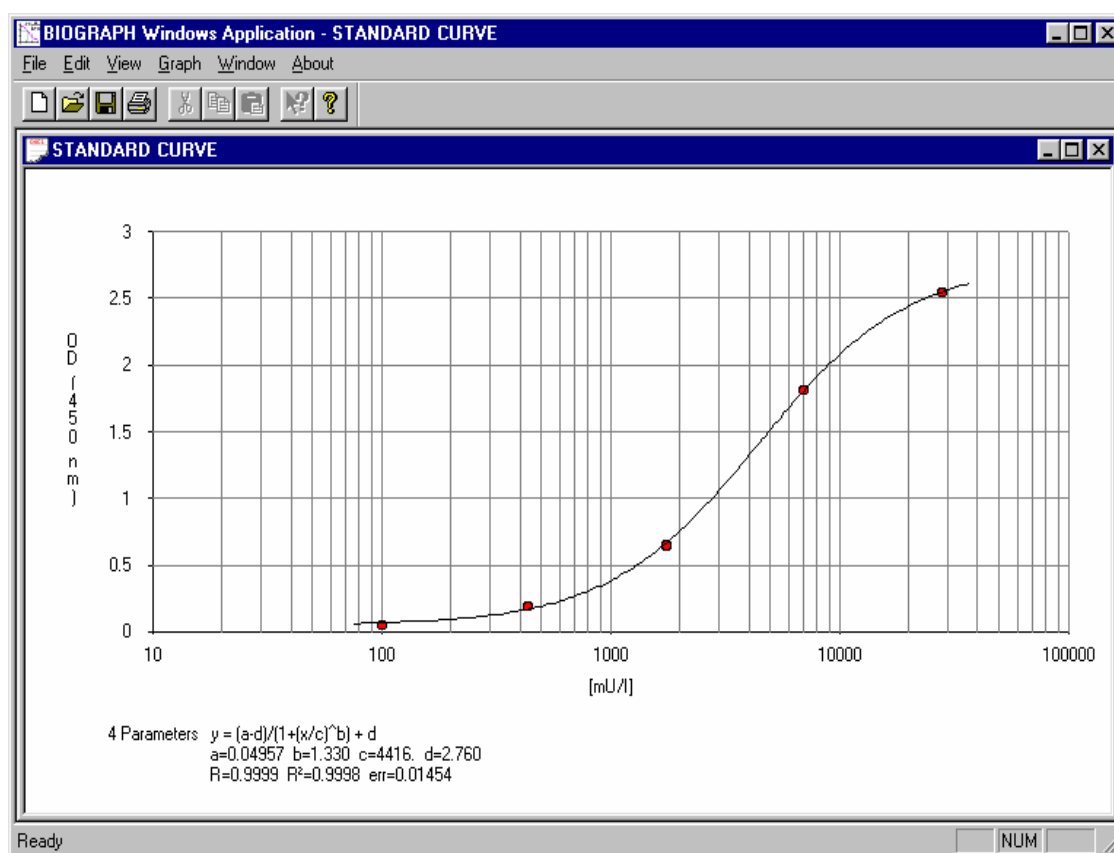
1. Add **100 µl** standard solutions and prediluted patient samples
2. Incubate for **1 hour**, shaking on a horizontal mixer, at room temperature.
3. Decant the content of the plate and wash the wells **5 x with 250µl** ELISA wash buffer.
4. Add **100 µl** prediluted anti-Pancreatic Amylase antibody.
5. Incubate for **1 hour**, shaking on a horizontal mixer, at room temperature.
6. Decant the content of the plate and wash the wells **5 x with 250µl** ELISA wash buffer.
7. Add **100 µl** TMB substrate solution.
8. Incubate for **5-15 minutes** at room temperature.
9. Add **50 µl** stop solution and mix shortly.
10. Determine absorption with an ELISA reader at **450 nm** against 620 nm as reference. If no reference wavelength is available, read only at 450 nm. If the extinction of the highest standard exceeds the measurement range of the photometer, absorption must be measured immediately at 405 nm against 620 nm as reference.

10. RESULTS

A calibration curve is constructed from the standards. Commercially available software can be used as well as graph paper. Results of the samples are read from this calibration curve.

THE CALIBRATION CURVE IS NOT LINEAR, therefore a spline- or 4PL algorithm is recommended.

Typical calibration curve



| | | | | | |
|----------------------|------|-------|-------|-------|-------|
| Konzentration [mU/l] | 0 | 440 | 1750 | 7000 | 28000 |
| OD Mittelwert | 0.05 | 0.195 | 0.651 | 1.812 | 2.544 |

These data are for demonstration only and cannot be used instead of data obtained from the actual assay

Faeces

For the Pancreatic Amylase concentration of faeces samples, calculate as described in the following example:

weight: 80 mg (1ml Stool = 1g) = 0,08 ml

dilution step 1: 5ml / 0,08ml = 62,5

dilution step 2: 40

dilution factor: 62,5 x 40 = 2500

Multiplicate the result with **2500** to get the real concentration. The dilution factor depends on the weight of the faeces.

11. LIMITATIONS

Samples with Pancreatic Amylase levels greater than the highest calibrator, should be diluted and re-assayed.

12. QUALITY CONTROL

Immundiagnostik recommends commercial control samples for internal quality control.

Control samples or serum/stool pools should be analyzed with each run of calibrators and patient samples. Results, generated from the analysis of control samples, should be evaluated for acceptability using appropriate statistical methods. In assays in which one or more of the quality control sample values lie outside the acceptable limits, the results for the patient sample may not be valid.

Expected values

| | |
|-----------------------------|-----------------|
| Pancreatic Amylase (stool): | > 1000 U/l |
| Grey area | 1000 – 1500 U/l |

13. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Sensitivity

The detection limit was defined as $B_0 + 2SD$.

n=20

| Sample | Pancreatic Amylase Mean value [OD] | Standard variation | Detection limit [mU/l] |
|--------|------------------------------------|--------------------|------------------------|
| 1 | 0.065 | 0.030 | 237 |

14. REFERENCES

1. Bishop et al.: 1996; Pancreas, 13 (3), 226
2. Katschinsky et al.: 1997; Pancreas, 15 (2), 1991

15. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE

- This assay was produced and put on the market according to the IVD guidelines of 98/79/EC.
- The test components which are made of human serum are tested for Australia antigen and HIV and found to be negative. However, since no test method can offer complete assurance that infectious agents are absent, these reagents should be handled as recommended for any potentially infectious human serum or blood specimen. The normal precautions for laboratory working should be observed.
- Reagents of the test package contain sodium azide as a bactericide. Contact with skin or mucous membranes has to be avoided.
- All reagents in the test package are to be used for in-vitro diagnostics only.
- The reagents should not be used after the date of expiry (see label on the test package).
- Single components with different lot numbers should not be mixed or exchanged.
- The guidelines for medical laboratories should be observed.
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the different components are defined by the producer. Any variations of the test procedure, that are not coordinated with the producer, may influence the results of the test. Immundiagnostik can therefore not be held reliable for any damage resulting from this.