

### Order information:

Catalog No.	Contents
11439	R1 9 x 20 ml

### Intended use:

Enzymatic in vitro test for the quantitative determination of α-amylase in human serum, plasma and urine.

### Summary:

The α-amylases (1,4-α-D-glucanohydrolases, EC 3.2.1.1) catalyze the hydrolytic degradation of polymeric carbohydrates such as amylose, amylopectin and glycogen by cleaving 1,4-α-glucosidic bonds. In polysaccharides and oligosaccharides, several glycosidic bonds are hydrolyzed simultaneously. Maltotriose, the smallest such unit, is converted into maltose and glucose, albeit very slowly.

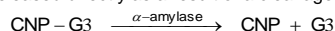
Two types of α-amylases can be distinguished, the pancreatic type (P-type) and the salivary type (S-type). Whereas the P-type can be attributed almost exclusively to the pancreas and is therefore organ-specific, the S-type can originate from a number of sites. As well as appearing in the salivary glands it can also be found in tears, sweat, human milk, amniotic fluid, the lungs, testes and the epithelium of the fallopian tube.

Because of the sparsity of specific clinical symptoms of pancreatic diseases, α-amylase determinations are of considerable importance in pancreatic diagnostics. They are mainly used in the diagnosis and monitoring of acute pancreatitis. Hyperamylasemia does not, however, only occur with acute pancreatitis or in the inflammatory phase of chronic pancreatitis, but also in renal failure (reduced glomerular filtration), tumors of the lungs or ovaries, pulmonary inflammation, diseases of the salivary gland, diabetic ketoacidosis, cerebral trauma, surgical interventions or in the case of macroamylasemia. To confirm pancreatic specificity, it is recommended that an additional pancreas-specific enzyme - lipase or pancreatic-α-amylase - also be determined.

Numerous methods have been described for the determination of α-amylase. These either determine the decrease in the amount of substrate viscometrically, turbidimetrically, nephelometrically and amyloclastically or measure the formation of degradation products saccharogenically or kinetically with the aid of enzyme-catalyzed subsequent reactions. The kinetic method described here is based on the cleavage of 2-chloro-4-nitrophenyl-αD-maltotrioside (CNP-G3) by α-amylase.

### Test principle:

Colorimetric test with 2-chloro-4-nitrophenyl-αD-maltotrioside (CNP-G3) as direct substrate. Colour is released directly as a result of a cleavage at the α-glycone:



(CNP = chloro-nitrophenol; G = glucose)

The increase of absorption of chloro-nitrophenol is directly proportional to the α-amylase concentration. The hydrolysis pattern in the formulation of the reagent show about less than 10 % CNP-G2 and less than 1% CNP-G4 as by products.

### Reagent concentration:

<b>R1:</b>	
MES buffer, pH 6.0	100 mmol/l
NaCl	350 mmol/l
Ca-Acetate	6 mmol/l
Potassium thiocyanate	900 mmol/l
CNP-G3	2.27 mmol/l
Stabilizers and detergents	> 0.1 %

### Preparation and stability:

R1: Ready for use	
The reagent is stable:	
Unopened:	up to expiry date at +2°C to +8°C
Opened:	14 days at +20°C to +25°C
	28 days at +2°C to +8°C.

### Specimen:

#### Serum/plasma

Collect serum using standard sampling tubes.

Heparinized or EDTA- plasma.	
Stability:	7 days at +20°C -25°C
	1 month at +2°C - 8°C

#### Urine

Collect without additives.

Stability:	2 days at +20°C - 25°C
	10 days at +2°C - +8°C

α-Amylase is unstable in acid urine. Assay promptly or adjust pH to alkaline range (about pH 7) before storage.

Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

### Notes:

For in vitro diagnostic use. The material safety data sheet contains further safety-related information. It is available for download from our homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com>.

Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

### Limitations - interference:

A slight change in the yellow coloration of solution 2 does not interfere with the performance of the test.

Do not pipette by mouth, and ensure that the reagent does not come into contact with the skin. **(Saliva and sweat contain α-amylase!)**

Criterion: Recovery within ±10% of initial value.

Icterus: No significant interference up to 70 mg/dl bilirubin.

Hemolysis: No significant interference up to 170 mg/dl hemoglobin.

Lipemia (Intralipid): No significant interference up to 2600 mg/dl triglycerides.

An increase of the initial absorbance of the reagent to A > 0.3 (405 nm) indicates a contamination of the reagent.

### Testing procedure:

Applications for automated systems are available on request.

#### Materials provided

• Working solutions as described above

#### Additional materials required

• Calibrators and controls as indicated below

• 0.9% NaCl

<b>Manual procedure:</b>		
Wavelength:	Hg 405 nm (400-420nm)	
Temperature:	+37°C	
Cuvette:	1 cm light path	
Zero adjustment:	against air	
	Serum/plasma	Urine
R1	1000 µl	1000 µl
Serum/plasma	20 µl	---
Urine	---	10 µl
Mix and incubate 1 min at +37°C. Then read initial absorbance and start stopwatch simultaneously. Read again after exactly 1, 2 and 3 minutes. Determine the mean change of absorbance per minute (ΔA/min) and use this for the calculation.		
<b>Calculation:</b>		
Use absorption differences to calculate ΔA/min. Multiply with the following factors:		
	Serum/plasma	Urine
Activity; +37°C (U/l)	10256 x ΔA/min.	20118 x ΔA/min

### Measuring /reportable range:

Measuring range: Up to 1500 U/l (25.8 µka/l)

Dilute samples having higher activities with 0.9% NaCl (e.g. 1 + 9). Multiply the result by the appropriate dilution factor (e.g. factor 10).

### Expected values:

	+37°C
Serum/plasma	< 220 U/l
Spontaneously voided urine	< 1000 U/l
24 h urine	< 900 U/l

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference range. For diagnostic purposes the α-amylase results should always be assessed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

### Analytical sensitivity (lower detection limit)

Detection limit: 7 U/l or 0.12 µkat/l

### Imprecision:

Reproducibility within run was determined using human samples and controls (n = 20). The following results were obtained:

Serum	Within run		
	Mean (U/l)	SD (U/l)	CV %
Sample 1	187	1.48	0.79
Sample 2	446	2.10	0.47
Sample 3	507	2.64	0.52

Reproducibility was determined using human samples and controls between day (n = 20). The following results were obtained:

Serum	Between day		
	Mean (U/l)	SD (U/l)	CV %
Sample 1	196	2.83	1.44
Sample 2	474	6.25	1.32
Sample 3	542	6.73	1.24

# Fluitest<sup>®</sup> AMYL CNPG3

α-AMYLASE



## **Method comparison:**

A comparison of the Analyticon Fluitest<sup>®</sup> AMYL (y) with a commercial obtainable assay (x) gave with 36 samples the following result:

$$y = 0.972x + 1.282; r = 0.999$$

## **Quality Control:**

Human Control Serum

Contronorm <sup>®</sup> Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Controptath <sup>®</sup> Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320

The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

## **Calibration:**

Multicalibrator:

Bio Cal <sup>®</sup> E	10 x 3 ml	#1430
------------------------	-----------	-------

## **Disposal:**

Please note the legal regulations.

## **Literature:**

- Bertholf RL, Winn-Deen ES, Bruns DE. Amylase in urine as measured by a single –step chromolytic method. Clin Chem 1988; 34: 754-7
- Fenton J, Foery R, Piatt L, Geschwindt K. A new chromogenic amylase method compared with two established methods. Clin Chem 1982; 28: 704-6.
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474
- Greiling H, Gressner AM ed. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3. Auflage. Stuttgart/New York: Schattauer Verlag, 1995.
- Keller H ed. Klinisch- chemische Labordiagnostik für die Praxis, 2. Auflage. Stuttgart/New York: Georg Thieme Verlag, 1991;354-361.
- Lorentz K. Approved Recommendation on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes. Part 9. IFCC-Method for α-Amylase (1,4-α-D-Gluca 4-Glucano- Hydrolase, EC 3.2.1.1.). Clin Chem Lab Med 1998;38:195-203
- Rauscher E et al. Fresenius Z Analyt Chem 1986; 324:304.
- Salt WB II, Schenker S. Amylase-its clinical significance: a review of the literature [Review]. Medicine 1976; 55:269-281 .
- Steinberg WM, Goldstein SS, Davies ND et al. Diagnostic assays in acute pancreatitis [Review]. Ann Intern Med 1985; 102:576 - 580.
- Tietz NW ed.: Clinical Guide to Laboratory Tests. 3. Auflage. Philadelphia, PA: W B Saunders Company; 1995:46-51
- Tietz NW, Huang WY, Rauh DF et al. Laboratory tests in the differential diagnosis of hyperamylasemia. Clin Chem 1986;32:301-307.



### Bestellinformation:

Katalog-Nr.	Inhalt
11439	R1 9 x 20 ml

### Anwendungszweck:

Enzymatischer in vitro Test zur quantitativen Bestimmung von α-Amylase in Humanserum, -plasma und -urin.

### Zusammenfassung:

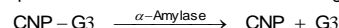
Die α-Amylasen (1,4-α-D-Glucanohydrolasen, EC 3.2.1.1) katalysieren den hydrolytischen Abbau von polymeren Kohlenhydraten wie Amylose, Amylopektin und Glykogen durch Spaltung von 1,4-α-glycosidischen Bindungen. Bei Poly- und Oligosacchariden werden immer mehrere glykosidische Bindungen gleichzeitig hydrolysiert. Als kleinste Einheit wird Maltotriose, jedoch mit sehr geringer Geschwindigkeit in Maltose und Glucose gespalten. Man unterscheidet zwei Typen von α-Amylasen, den Pankreas-Typ (P-Typ) und den Speicheldrüsen-Typ (S-Typ). Während der P-Typ praktisch ausschließlich dem Pankreas und damit organspezifisch zugeordnet werden kann, ist der S-Typ unterschiedlicher Herkunft. Außer in den Speicheldrüsen kann er in Tränen, Schweiß, Muttermilch, Amnionflüssigkeit, Lungen, Hoden und im Epithel der Eileiter vorkommen.

α-Amylase-Bestimmungen haben aufgrund der wenig spezifischen klinischen Symptomatik von Pankreaserkrankungen einen hohen Stellenwert in der Pankreasdiagnostik. Sie werden vor allem zur Diagnose und Verlaufskontrolle von akuter Pankreatitis eingesetzt. Hyperamylasämie kann aber nicht nur bei akuter Pankreatitis oder in der inflammatorischen Phase der chronischen Pankreatitis auftreten, sondern auch bei Niereninsuffizienz durch verminderte glomeruläre Filtration, Tumoren der Lunge oder der Ovarien, Lungenentzündung, Speicheldrüsenkrankungen, diabetischer Ketoazidose, cerebralen Traumata, chirurgischen Eingriffen oder im Fall einer Makroamylasämie. Zur Absicherung der Pankreasspezifität empfiehlt sich die zusätzliche Bestimmung eines weiteren Pankreas-spezifischen Enzyms, der Lipase oder der Pankreas-α-Amylase.

Zahlreiche Methoden wurden für die α-Amylasebestimmung beschrieben, welche die Substratabnahme viskosimetrisch, turbidimetrisch, nephelometrisch oder amyloklatisch messen oder die Bildung von Spaltprodukten saccharogen oder kinetisch durch enzymkatalysierte Folgereaktionen erfassen. Die vorliegende kinetische Methode beruht auf der Spaltung von 2-Chlor-4-Nitrophenyl-α-D-Maltotriosid (CNPG3) durch α-Amylase.

### Testprinzip:

Colorimetrischer Test mit 2-Chlor-4-Nitrophenyl-α-D-Maltotriosid (CNP-G3) als Substrat. Durch die Amylaseaktivität wird die farbgebende CNP-Gruppe abgespalten und als Extinktionszunahme angezeigt:



(CNP = Chlor-Nitrophenol; G = Glucose)

Die Farbintensität des gebildeten p-Nitrophenols ist direkt proportional der α-Amylaseaktivität und wird photometrisch gemessen. In dem eingesetzten Reagenz liegt die Konzentration an Hydrolyse-Nebenprodukten bei weniger als 10% CNP-G2 und weniger 1% CNP-G4.

### Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

<b>R1:</b>	
MES-Puffer, pH 6,0	100 mmol/l
NaCl	350 mmol/l
CA-Acetat	6 mmol/l
Kalium Thiocyanat	900 mmol/l
CNP-G3	2.27 mmol/l
Stabilisatoren und Detergenzien	>0,1 %

### Herstellung und Haltbarkeit:

R1 ist gebrauchsfertig.

Ungeöffnet ist das Reagenz stabil.

Das Reagenz ist haltbar:

Ungeöffnet:	bis zum aufgedruckten Verfallsdatum	bei +2°C bis +8°C
Geöffnet	14 Tage	bei +20°C bis +25°C
	28 Tage	bei +2°C bis +8°C

### Untersuchungsmut:

#### Serum/Plasma

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen.

Heparin- oder EDTA-Plasma.

Haltbarkeit:	7 Tage	bei +20°C - 25°C
	1 Monat	bei +2°C - 8°C

#### Urin

Den Urin ohne Konservierungszusätze sammeln. Urin sollte möglichst frisch verwendet werden.

Haltbarkeit:	2 Tage	bei +20°C - 25°C
	10 Tage	bei +2°C - +8°C

Die α-Amylase ist im sauren Urin instabil. Die Proben sofort bestimmen oder zur Lagerung alkalisieren (pH-Wert um 7,0).

Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.

### Hinweis:

In vitro Diagnostikum. Weitere sicherheitsrelevante Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten. Dieses steht auf unserer Homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com> zum Download bereit.

Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

### Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen:

Eine geringfügige Veränderung der Gelbfärbung von Lösung 2 hat keinen Einfluss auf die Funktion des Tests.

Nicht mit dem Mund pipettieren, Hautkontakt mit dem Reagenz vermeiden, da

#### Speichel und Schweiß α-Amylase enthalten!

Als Bewertung gilt: Wiederfindung ± 10% vom Ausgangswert.

Icterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zu 70 mg/dl Bilirubin.

Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zu 170 mg/dl Hämoglobin.

Lipämie (Intralipid): Keine wesentliche Beeinflussung bis zu 2600 mg/dl Triglyceride. Ein Ansteigen der Anfangsextinktion des Reagenzes auf E > 0.3 (405 nm) weist auf eine Verunreinigung hin.

### Testverfahren:

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

#### Gelieferte Materialien

- Gebrauchsfertige Lösungen wie vorher angegeben.

#### Zusätzlich benötigte Materialien

- Kalibrations- und Kontrollmaterial wie nachfolgend beschrieben.

- Natriumchlorid-Lösung (0,9%)

<b>Manuelle Testdurchführung:</b>		
Wellenlänge:	Hg 405 nm (400-420nm)	
Reaktionstemperatur:	+37°C	
Schichtdicke:	1 cm	
Messung:	gegen Luft	
	Serum/Plasma	Urin
R1	1000 µl	1000 µl
Serum/Plasma	20 µl	---
Urin	---	10 µl
Mischen und 1 Minute bei +37°C inkubieren. Anfangsextinktion ablesen und Stoppuhr starten. Nach genau 1,2 und 3 Minuten die Ablesung wiederholen.		
<b>Berechnung</b>		
Aus den Messwerten ΔE/min berechnen. Dann mit folgenden Faktoren multiplizieren.		
	Serum/Plasma	Urin
Aktivität; +37°C (U/l)	10256 x ΔE/min.	20118 x E/min

### Messbereich:

Bis 1500 U/l bzw. 25,8 µkat/l

Proben mit höheren Aktivitäten werden manuell mit NaCl-Lösung (0,9%) verdünnt (z. B. 1 + 9). Ergebnis mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multiplizieren (z. B. Faktor 10).

### Referenzbereich:

	+37°C
Serum/Plasma	< 220 U/l
Spontanurin	< 1000 U/l
24 h Urin	< 900 U/l

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln. Für diagnostische Zwecke sind die α-Amylaseergebnisse stets im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

### Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

7 U/l bzw. 0,12 µkat/l

### Imprecision:

Die serielle Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben (n = 20) bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

Serum	In der Serie		
Probe	MW (U/l)	SD (U/l)	VK %
Probe 1	187	1,48	0,79
Probe 2	446	2,10	0,47
Probe 3	507	2,64	0,52

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben von Tag zu Tag (n = 20) bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

Serum	Tag / Tag		
Probe	MW (U/l)	SD (U/l)	VK %
Probe 1	196	2,83	1,44
Probe 2	474	6,25	1,32
Probe 3	542	6,73	1,24

### Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon Fluitest AMYL (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden mit 36 Proben folgende Ergebnisse erhalten:  
 $y = 0,972x + 1,282$ ;  $r = 0,999$

### Qualitätskontrolle:

Humanes Kontrollserum

Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Contropath® Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320

Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors und den länderspezifischen Richtlinien anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der festgesetzten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall beschreiben, dass Werte außerhalb des Bereichs liegen.

### Kalibration:

Multikalibrator:

Bio Cal E	10 x 3 ml	# 1430
-----------	-----------	--------

### Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

### Literatur:

- Bertholf RL, Winn-Deen ES, Bruns DE. Amylase in urine as measured by a single-step chromolytic method. Clin Chem 1988; 34: 754-7
- Fenton J, Foery R, Piatt L, Geschwindt K. A new chromogenic amylase method compared with two established methods. Clin Chem 1982; 28: 704-6
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474
- Greiling H, Gressner AM (Hrsg.). Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3. Auflage. Stuttgart/New York: Schattauer Verlag, 1995.
- Keller H (Hrsg.). Klinisch- chemische Labordiagnostik für die Praxis, 2. Auflage. Stuttgart/New York: Georg Thieme Verlag, 1991;354-361.
- Lorentz K. Approved Recommendation on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes. Part 9. IFCC-Method for α-Amylase (1,4-α-D-Gluca 4-Glucano- Hydrolase, EC 3.2.1.1.). Clin Chem Lab Med 1998;38:195-203
- Rauscher E et al. Fresenius Z Analyt Chem 1986; 324:304.
- Salt WB II, Schenker S. Amylase-its clinical significance: a review of the literature [Review]. Medicine 1976; 55:269-281 .
- Steinberg WM, Goldstein SS, Davies ND et al. Diagnostic assays in acute pancreatitis [Review]. Ann Intern Med 1985; 102:576 - 580.
- Tietz NW (Hrsg.) : Clinical Guide to Laboratory Tests. 3. Auflage. Philadelphia, PA: W B Saunders Company; 1995:46-51
- Tietz NW, Huang WY, Rauh DF et al. Laboratory tests in the differential diagnosis of hyperamylasemia. Clin Chem 1986; 32: 301-307.