

α -AMYLASE-SL ASSAY

CATALOGUE NUMBER: 341-10 **SIZE:** 10 x 10 mL
 341-40 4 x 100 mL

INTENDED USE

For the IN VITRO quantitative measurement of α -amylase in serum.

TEST SUMMARY

α -Amylase (1,4- α -D-Glucan glucanohydrolase, EC 3.2.1.1) is an enzyme of the digestive tract. It hydrolyzes dietary starch and glycogen to form maltose by splitting their chains at alternate hemiacetal linkages. The enzyme is normally secreted into the digestive tract from the parotid glands and the pancreas. In diseases affecting these glands, and particularly when the pancreatic duct is obstructed, the amount of enzyme in serum is increased.⁽¹⁾

Methods employed for assaying amylase activity are:

1. Saccharogenic assays, where the amount of reducing sugars formed are measured after serum and a starch substrate are incubated.
2. Amyloclastic methods, which follow the decrease in concentration of the starch substrate when it is incubated with serum.
3. Enzymatic methods in which the maltose formed is metabolized (usually through glucose) in a series of reactions which generate NADH.
- 4a. Enzymatic methods which quantitate the release of p-nitrophenol from the p-nitrophenol maltopentaoside and hexaoside substrates.⁽²⁾
- 4b. Enzymatic method which quantitates the release of 2-chloro-p-nitrophenol from the 2-chloro-p-nitrophenyl- α -D-maltotrioside (CNP3) substrate.⁽³⁾

This amylase assay is a one step enzymatic procedure which uses the substrate CNPG3.⁽³⁾ The advantage being that the α -amylase reacts directly, without auxiliary enzymes, with the CNPG3 substrate releasing 2-chloro-p-nitrophenol.

TEST PRINCIPLE

α -Amylase

CNP3 (2-chloro-p-nitrophenyl- α -D-maltotrioside) \rightarrow 2-chloro-p-nitrophenol

The α -amylase reacts directly with CNPG3 to release 2-chloro-p-nitrophenol which is monitored at 405 nm. The rate of increase in absorbance at 405 nm is proportional to the α -amylase in the sample.

REAGENTS

α -Amylase Reagent: A solution containing at least 2.25 mmol/L CNPG3, buffer (pH 6.0 at 25°C), activators, and stabilizers.

WARNINGS & PRECAUTIONS FOR USE

S24/25: Avoid ingestion and contact with skin and eyes.
 See Material Safety Data Sheet for additional information.
 Saliva contains amylase. Avoid contamination of testing materials or containers with saliva.

REAGENT PREPARATION, STORAGE, AND STABILITY

The reagent is provided in a ready to use format.

The reagent included is stable until the expiry date stated on the vial label when stored at 2-8°C.

Stability claims are based on real time studies.

REAGENT DETERIORATION

The reagent solution should be clear. Turbidity would indicate deterioration.

DISPOSAL

Reagents must be disposed of in accordance with all Federal, Provincial, State and local regulations.

SPECIMEN

Fresh, clear, unhemolysed serum.

SAMPLE STORAGE

Amylase is stable in serum for at least one week when stored at room temperature or for several months at 4°C.⁽⁴⁾

ANALYTICAL SPECIFICITY (CLSI EP7)⁽⁶⁾

Cross contamination studies have not been performed on automated instruments. Certain reagent/instrument combinations used in sequence with this assay may interfere with reagent performance and test results. The existence of, or effects of, any potential cross contamination issues are unknown.

Amylase in saliva will falsely elevate test results if testing materials become contaminated with saliva.

Concentration of Analyte	Substance Tested	Concentration of Interferent Where Interference is Insignificant	
121 U/L	Hemoglobin	200 mg/dL	31 μ mol/L
121 U/L	Bilirubin	40 mg/dL	684 μ mol/L
121 U/L	Intralipid	600 mg/dL	1800 mg/dL (20.3 mmol/L) Simulated Triglycerides

The information presented above is based on results from Genzyme Diagnostics studies and is current at the date of publication.

A summary of the influence of drugs on clinical laboratory tests may be found by consulting Young, D.S.⁽⁵⁾

ANALYTICAL PROCEDURE**MATERIALS PROVIDED**

Genzyme Diagnostics' α -Amylase reagent.

MATERIALS REQUIRED (BUT NOT PROVIDED)

- 1) Automated analyzer capable of accurately measuring absorbances at appropriate wavelength as per instrument application.
- 2) Calibration material (if applicable).
- 3) Quality Control materials.

TEST CONDITION

For the data presented in this insert, studies using this reagent were performed on an automated analyzer using a kinetic test mode, with a sample to reagent ratio of 1:60, and wavelength reading of (primary/ secondary) 416 nm / 660 nm. For assistance with applications on automated analyzers within Canada and the U.S., please contact Genzyme Diagnostics Technical Services at (800)565-0265. Outside Canada and the U.S., please contact your local distributor.

CALIBRATION

The frequency of calibration, if necessary, using an automated system is dependent on the system and the parameters used.

QUALITY CONTROL

A normal and abnormal concentration control should be analyzed as required in accordance with local, state and federal guidelines. The results should fall within the acceptable range as established by the laboratory.

CALCULATIONS

The analyzer automatically calculates the α -amylase concentration of each sample.

TEST LIMITATIONS

A sample with an α -amylase concentration exceeding the linearity limit should be diluted with 0.9% saline and reassayed, incorporating the dilution factor in the calculation of the value.

REFERENCE INTERVALS⁽⁴⁾

The expected values of α -amylase were determined using serum obtained from 120 apparently normal adults following the procedures outlined in CLSI Document C28-P. The range was determined to be 18-87 U/L at 37°C.

These values are suggested guidelines. It is recommended that each laboratory establish its own expected range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Data presented was collected on a Roche/Hitachi® analyzer unless otherwise stated.

RESULTS

α -Amylase activity is reported as U/L.

REPORTABLE RANGE (CLSI EP6)⁽⁶⁾

The linearity of the procedure described is 2000 U/L. The lower limit of detection of the procedure is 3 U/L. The data results in a reportable range of 3-2000 U/L.

PRECISION STUDIES (CLSI EP5)⁽⁶⁾

Data was collected on two concentrations of control sera using a single lot of reagent in 40 runs conducted over 20 days.

Concentration (U/L)	Total SD (U/L)	Total CV (%)	Within-Run SD (U/L)	Within-Run CV (%)
46	1.5	3.3	1.2	2.7
390	8.8	2.3	2.5	0.6

ACCURACY (CLSI EP9)⁽⁶⁾

The performance of this method (y) was compared with the performance of another CNPG3 method (x) on a Roche/Hitachi® analyzer. Forty samples ranging from 16-1779 U/L gave a correlation coefficient of 0.9984. Linear regression analysis gave the following equation:

$$\text{This method} = 0.9603 (\text{reference method}) + 4.5 \text{ U/L.}$$

All trademarks, brands, product names and trade names are the property of their respective companies.

Manufactured by:



The Americas

Genzyme Diagnostics P.E.I. Inc.
70 Watts Avenue
Charlottetown, PE C1E 2B9
Canada

Phone: 800-565-0265

Fax: 902-628-6504

Email: customerservice@genzyme.com

peidiagnosticttechnical@genzyme.com

International

Genzyme Diagnostics
50 Gibson Drive
Kings Hill, West Malling
KENT, ME19 4AF, UK

Email: ukdiagcustomerservice@genzyme.com

ukdiagcustomerservice@genzyme.com

www.genzymediagnosics.com

ES

ANÁLISIS DE α -AMILASA-SL

NÚMERO DE CATÁLOGO: 341-10 TAMAÑO: 10 x 10 ml
341-40 4 x 100 ml

USO PARA EL QUE FUE DISEÑADO

Para la medición cuantitativa IN VITRO de α -amilasa en suero.

RESUMEN DEL ANÁLISIS

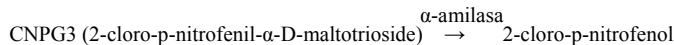
La α -amilasa (1,4- α -D-glucan glucanohidrolasa, EC 3.2.1.1) es una enzima del tracto digestivo. Esta hidroliza el almidón alimenticio y el glicógeno para formar maltosa, separando sus cadenas en enlaces hemiacetales alternos. Por lo general, la enzima la secretan las glándulas parótidas y el páncreas al tracto digestivo. En las enfermedades que afectan a estas glándulas, y en especial cuando el conducto pancreático queda obstruido, aumenta la cantidad de enzimas en suero.⁽¹⁾

Los métodos empleados para analizar la actividad de la amilasa son:

1. Análisis de sacarógenos, en los que se mide la cantidad de azúcar reducida que se ha formado luego de haber incubado el suero y el sustrato de almidón.
2. Métodos amiloclásticos, que siguen la disminución de la concentración del sustrato de almidón cuando este se incubó con suero.
3. Métodos enzimáticos en los que se metaboliza la maltosa formada (generalmente por medio de glucosa) en una serie de reacciones que generan NADH.
- 4a. Métodos enzimáticos que valoran cuantitativamente el p-nitrofenol liberado de p-nitrofenol maltopentaoside y de los sustratos de hexaoside.⁽²⁾
- 4b. Método enzimático que valora cuantitativamente el 2-cloro-p-nitrofenol liberado del sustrato 2-cloro-p-nitrofenil- α -D-maltotrioside (CNPG3).⁽³⁾

El análisis de la amilasa es un procedimiento enzimático de un solo paso que emplea el sustrato CNPG3 (3). La ventaja radica en que la α -amilasa reacciona directamente, sin enzimas auxiliares, y el sustrato CNPG3 libera 2-cloro-p-nitrofenol.

PRINCIPIO DEL ANÁLISIS



La α -amilasa reacciona directamente con el CNPG3 para liberar 2-cloro-p-nitrofenol que es controlado a 405 nm. El índice de incremento en la absorbencia a 405 nm es proporcional a la α -amilasa de la muestra

AGENTES REACTIVOS

Agente reactivo α -amilasa: una solución que contenga al menos 2.25 mmol/l de CNPG3, tampón (pH 6.0 a 25° C), agentes promotores y estabilizadores.

ADVERTENCIAS Y MEDIDAS DE PRECAUCIÓN PARA SU USO

S24/25: Evite ingerirlo y el contacto con la piel y los ojos.

Para obtener mayor información, lea la hoja de datos de seguridad de materiales. La saliva contiene amilasa. Evite la contaminación con saliva de los materiales de análisis o de los envases.

PREPARACIÓN, ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DEL AGENTE REACTIVO

El agente reactivo se suministra en formato listo para su uso.

El agente reactivo suministrado es estable hasta la fecha de vencimiento indicada en la etiqueta del frasco, si el producto se almacena a una temperatura de entre 2 y 8° C.

Las afirmaciones acerca de la estabilidad se fundan en estudios realizados en tiempo real.

DETERIORO DEL AGENTE REACTIVO

La solución del agente reactivo debe ser transparente. La turbidez podría ser una indicación de deterioro.

ELIMINACIÓN

Los agentes reactivos se deben eliminar de acuerdo con las estipulaciones de las normas federales, provinciales, estatales y locales.

MUESTRA

Suero fresco, transparente, sin hemolizar.

ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

La muestra de preferencia es la del suero recién sacado, transparente, sin hemolizar. La amilasa es estable en suero durante al menos una semana si se guarda a temperatura ambiente, o varios meses a una temperatura de 4° C.⁽⁴⁾

ESPECIFICIDAD ANALÍTICA (CLSI EP7)⁽⁶⁾

No se ha realizado estudios acerca de la contaminación cruzada en instrumentos automatizados. Ciertas combinaciones de agentes reactivos / instrumentos utilizados en secuencia con este estudio pueden interferir con el desempeño de los agentes reactivos y los resultados de los análisis. Se desconoce si existen problemas de contaminación cruzada posible, o de sus efectos.

La amilasa de la saliva eleva falsamente los resultados del análisis si los materiales que se utilizan quedan contaminados con saliva.

Concentración del analizado	Substancia analizada	Concentración de interferente en casos en que la interferencia es insignificante	
121 U/l	Hemoglobina	200 mg/dl	31 µmol/l
121 U/l	Bilirrubina	40 mg/dl	684 µmol/l
121 U/l	Intralípido	600 mg/dl	1800 mg/dl (20.3 mmol/l) de triglicéridos simulados

La información que se presenta arriba se funda en los resultados de los estudios practicados por Genzyme Diagnostics, y está vigente a la fecha de su publicación.

Se puede obtener un resumen de la influencia de los medicamentos en estudios clínicos de laboratorio consultando a Young, D.S.⁽⁵⁾

PROCEDIMIENTO ANALÍTICO

MATERIALES SUMINISTRADOS

Agente reactivo de α -amilasa de Genzyme Diagnostics.

MATERIALES NECESARIOS (PERO NO SUMINISTRADOS)

- 1) Analizador automatizado, capaz de medir con precisión la absorbencia a una longitud de onda adecuada, según la aplicación por instrumento.
- 2) Material de calibración.
- 3) Materiales de control de calidad.

CONDICIÓN DEL ANÁLISIS

Para la obtención de los datos que se presentan en este encarte, se realizaron estudios con este agente reactivo en un analizador automatizado en modo de análisis cinético, con una proporción de 1:60 entre la muestra y el agente reactivo, y una lectura de longitud de onda de 416 nm/660 nm (primaria/secundaria). Si desea ayuda para aplicaciones en analizadores automatizados en Canadá o EE UU, comuníquese con Genzyme Diagnostics Technical Services llamando al teléfono (800) 565-0265. En otros países, llame al distribuidor de su localidad.

CALIBRACIÓN

De ser necesaria, la frecuencia de la calibración utilizando un sistema automatizado depende del sistema y de los parámetros aplicados.

CONTROL DE CALIDAD

Deben analizarse los controles de concentración normal y anormal, según sea necesario, de conformidad con los reglamentos locales, estatales y federales. Los resultados deben estar dentro de los límites aceptables establecidos por el laboratorio.

CÁLCULOS

El analizador calcula automáticamente la concentración de α -amilasa de cada muestra.

LIMITACIONES DEL ANÁLISIS

Una muestra con una concentración de α -amilasa que supere el límite de linealidad debe ser diluida con una solución salina al 0.9% y debe volverse a analizar incorporando el factor de dilución en el cálculo del valor.

INTERVALOS DE REFERENCIA⁽⁴⁾

Se determinó los valores esperados de α -amilasa empleando suero obtenido de 120 adultos aparentemente normales, siguiendo los procedimientos explicados en el documento C28-P de NCCLS. Se determinó que los límites a una temperatura de 37° C son de 18 y 87 U/l.

Estos valores se sugieren como pauta. Se recomienda que cada laboratorio establezca los límites normales para el lugar en que está ubicado.

PERFORMANCE CARACTERÍSTICAS

Les données présentées ont été recueillies sur un analyseur Roche/Hitachi® sauf mention contraire.

RESULTADOS

La actividad de la α -amilasa se expresa en u/l.

LÍMITES SIGNIFICATIVOS (CLSI EP6)⁽⁶⁾

La linealidad del procedimiento descrito es de 2000 U/l. El límite inferior de detección del procedimiento descrito es de 3 U/l. Estos datos caen dentro de los límites significativos de entre 3 y 2000 U/l.

ESTUDIOS DE PRECISIÓN (CLSI EP5)⁽⁶⁾

Los datos fueron recogidos con dos concentraciones de suero de control, empleando un solo lote del agente reactivo en cuarenta pruebas realizadas en un período de más de veinte días.

Concentración (U/l)	Total de SD (U/l)	Total de CV (%)	Dentro de la prueba SD (U/l)	Dentro de la prueba CV (%)
46	1.5	3.3	1.2	2.7
390	8.8	2.3	2.5	0.6

PRECISIÓN (CLSI EP9)⁽⁶⁾

Los resultados de este método de análisis (y) se compararon con los de otro método de análisis CNPG3 (x), empleando un analizador Roche/Hitachi®. Las cuarenta muestras de suero con límites de entre 16 y 1779 U/l dieron un coeficiente de correlación de 0.9984. El análisis de regresión lineal dio la siguiente ecuación:

$$\text{Este método} = 0.9603 (\text{método de referencia}) + 4.5 \text{ U/l.}$$

Todas las marcas de fábrica, marcas, nombres de productos y nombres comerciales son de propiedad de sus respectivas empresas.

Elaborado por:



Continente americano
Genzyme Diagnostics P.E.I. Inc.
70 Watts Avenue
Charlottetown, PE C1E 2B9
Canada

Teléfono: 800-565-0265
Fax: 902-628-6504
Correo electrónico:
customerservice@genzyme.com
peidiagnosticttechnical@genzyme.com

Internacional
Genzyme Diagnostics
50 Gibson Drive
Kings Hill, West Malling
KENT, ME19 4AF, RU

Correo electrónico:
ukdiagcustomerservice@genzyme.com

www.genzymediagnosics.com

Definitions for Symbols/ Definición de los símbolos

LOT

Batch Code
Código de lote



Manufacturer
Fabricante



Consult instructions for use
Consulte las instrucciones de uso

IVD

In vitro diagnostic medical device
Dispositivo médico para el diagnóstico *in vitro*



Use by
YYYY-MM-DD or YYYY-MM
Fecha de caducidad
AAAA-MM-DD o AAAA-MM

REF

Catalog number
Número de catálogo



Temperature limitation
Límites de temperatura

REFERENCES/ REFERENCIAS

1. Burtis, Carl A. and Ashwood, Edward, R. (Ed.), Tietz, Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Co., Pennsylvania, 854-856 (1994).
2. Fenton, J., et.al., Clin. Chem. 28, 704 (1982).
3. Winn-Deen, Emily S., David H., Segler G., Chavex, R., Development of a Direct Assay for α -Amylase, Clin. Chem. 34/10, 2005-2008 (1988).
4. Kaplan, L.A. and Pesce A., Clinical Chemistry 3rd Edition, Mosby, St. Louis, 568, (1994).
5. Young, D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, AACC Press, Third Edition, Washington, 1990.
6. *CLSI Method Evaluation Protocols*, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

IN34110-7
October 13, 2009