

## AMYLASE EPS

Nazwa zestawu	(PL) Nr kat.
Liquick Cor-AMYLASE EPS 30	2-332
Liquick Cor-AMYLASE EPS 60	2-333
Liquick Cor-AMYLASE EPS 120	2-334
HC-AMYLASE EPS	4-576
OS-AMYLASE EPS	9-476

### ZASTOSOWANIE

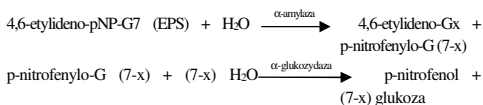
Zestaw diagnostyczny do oznaczania aktywności  $\alpha$ -amylazy, przeznaczony do wykonywania oznaczeń manualnie (metody: Sample Start i Reagent Start) oraz na analizatorach automatycznych. Odczynniki powinny być stosowane do badań diagnostycznych *in vitro*, przez odpowiednio przeszkolony personel, tylko zgodnie z ich przeznaczeniem, w odpowiednich warunkach laboratoryjnych.

### WPROWADZENIE

$\alpha$ -Amylasy są hydrolitycznymi enzymami, które hydrolizują wiązanie  $\alpha$ -1 $\rightarrow$ 4 glikozydowe skrobi i pokrewnych polisacharydów do maltozy i innych oligosacharydów. Wyróżniamy różne typy amylaz ludzkich w zależności od organu, przez który są wytwarzane.  $\alpha$ -Amylaza jest najczęściej oznaczana w diagnostyce ostrego zapalenia trzustki, kiedy jej aktywność w surowicy jest bardzo wysoka. Wzrostowi aktywności  $\alpha$ -amylazy w osoczu towarzyszy również znaczny wzrost wydzielania enzymu z moczem, który może trwać dłużej niż wzrost aktywności we krwi. Dlatego aktywność  $\alpha$ -amylazy w moczu bywa oznaczana jako wskaźnik ostrego zapalenia trzustki. Hiperamylazemia występuje również w ostrych fazach przewlekłego zapalenia trzustki, jak również przy niewydolności nerek, płuc, schorzeniach gruczołów ślinowych i obrażeniach mózgu, a także przy chirurgicznych operacjach oraz makroamylazemii. Dla potwierdzenia schorzeń trzustki, zalecane jest zawsze określenie innego specyficznego enzymu trzustkowego, takiego jak lipaza.

### ZASADA METODY

Enzymatyczna metoda kolorymetryczna, z substratem EPS oparta na zaleceniach Międzynarodowej Federacji Chemii Klinicznej (modyfikowana metoda IFCC).  $\alpha$ -Amylaza katalizuje hydrolizę substratu 4,6-etylideno-(G7)-p-nitrofenylo-(G1)- $\alpha$ -D-maltoheptozidu (EPS, Ethylidene Protected Substrate). Grupa etyldenowa chroni substrat przed rozpadem w wyniku działania egzoenzymów, dlatego w przypadku braku  $\alpha$ -amylazy nie jest obserwowany wzrost absorbancji.  $\alpha$ -Amylaza hydrolizuje substrat na mniejsze fragmenty, z których następnie w wyniku działania enzymu  $\alpha$ -glukozydazy jest uwalniany chromofor p-nitrofenol (pNP) i glukoza.



Wzrost absorbancji z powodu tworzenia się p-nitrofenolu jest wprost proporcjonalny do aktywności  $\alpha$ -amylazy w badanej próbce i jest mierzony spektrofotometrycznie przy długości fali 405nm.

### ODCZYNNIKI

Skład zestawu	Liquick Cor-AMYLASE EPS 30	Liquick Cor-AMYLASE EPS 60	Liquick Cor-AMYLASE EPS 120
1-REAGENT	5 x 24 ml	5 x 48 ml	5 x 96 ml
2-REAGENT	1 x 30 ml	1 x 60 ml	1 x 120 ml
	<b>HC-AMYLASE EPS</b>	<b>OS-AMYLASE EPS</b>	
1-REAGENT	2 x 48,5 ml	2 x 53,5 ml	
2-REAGENT	2 x 12,2 ml	2 x 16 ml	

Odczynniki przechowywane w temp. 2-8°C zachowują trwałość do daty ważności podanej na opakowaniu. Odczynniki przechowywane na pokładzie aparatu w 2-10°C są stabilne przez 12 tygodni.

### Przygotowanie i trwałość odczynnika roboczego

Oznaczenie można wykonać korzystając z oddzielnych odczynników 1- REAGENT i 2- REAGENT lub z odczynnika roboczego. W celu przygotowania odczynnika roboczego delikatnie zmieszać odczynniki 1-REAGENT i 2-REAGENT w stosunku **4 + 1**. Unikać pienienia odczynników.

Trwałość odczynnika roboczego: 4 tygodnie w 2-8°C  
5 dni w temp. 18-25°C

### Stężenia składników w odczynnikach

bufor HEPES, pH 7,2	52,5 mmol/l
chlorek sodu	87 mmol/l
chlorek magnezu	12,6 mmol/l
chlorek wapnia	0,075 mmol/l
$\alpha$ -glukozydaza	$\geq 4$ kU/l
4,6-etylideno G7pNP (EPS)	$> 4$ mmol/l
stabilizatory i konserwanty	


### Ostrzeżenia i uwagi

- Chronicznie przed zanieczyszczeniem mikrobiologicznym oraz amylazą zawartą w ślinie i potcie.
- Chronicznie przed bezpośrednim światłem słonecznym.
- Odczynniki muszą być klarowne, nie używać w przypadku zmętnienia.
- Lekko żółty kolor 2- REAGENT nie wpływa na wynik oznaczenia.
- 1-REAGENT i 2- REAGENT spełniają kryteria klasyfikacji zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 1272/2008.

### Składniki:

1-REAGENT i 2-REAGENT zawierają mieszaninę poreaekcyjną 5-chloro-2-metylo-2H-izotiazol-3-onu i 2-metylo-2H-izotiazol-3-onu (3:1).

### Uwaga

 H317 May cause an allergic skin reaction.  
H412 Harmful to aquatic life with long lasting effects.  
P280 Wear protective gloves, protective clothing, eye protection or face protection.  
P302 + P352 IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water.

P273 Avoid release to the environment.

### WYPOSAŻENIE DODATKOWE

- analizator automatyczny lub fotometr umożliwiający odczyt przy długości fali 405 nm;
- termostat na 37°C;
- ogólne wyposażenie laboratoryjne;

### MATERIAŁ BIOLOGICZNY

Surowica lub osocze krwi pobrane na heparynę bez śladów hemolizy, mocz.

Nie stosować antykoagulantów: EDTA, cytrynianów i szczawianów, ponieważ hamują aktywność amylazy.

Surowica / osocze mogą być przechowywane przez 7 dni w temp. 15-25°C lub przez miesiąc w temp. 2-8°C.<sup>7</sup> Mocz może być przechowywany przez 2 dni w temp. 15-25°C lub przez 10 dni w temp. 2-8°C.<sup>6</sup> Amylaza jest bardzo niestabilna w moczu o kwaśnym pH. Przed przechowywaniem próbki, pH doprowadzić do ok. 7,0. Niemniej zaleca się wykonanie badań na świeżo pobranym materiale biologicznym!

### WYKONANIE OZNACZENIA

Programy do analizatorów dostarczamy na życzenie.

### Oznaczenie manualne

długość fali	405 nm
temperatura	37°C
kuweta	1 cm

### Metoda Sample Start

Do kuwety napipetować:

	próbna zerowa (PZ)	próbna badana (PB)	próbna wzorcowa (PW)
odczynnik roboczy	1000 $\mu$ l	1000 $\mu$ l	1000 $\mu$ l
kalibrator	-	-	20 $\mu$ l
materiał badany	-	20 $\mu$ l	-
woda destylowana	20 $\mu$ l	-	-

Ogrzać do temperatury oznaczenia. Następnie dodać:

kalibrator	-	-	20 $\mu$ l
materiał badany	-	20 $\mu$ l	-
woda destylowana	20 $\mu$ l	-	-

Dokładnie wymieszać i po dokładnie 2 minutach inkubacji w temperaturze oznaczenia (37°C) odczytać absorbancję, powtórzyć pomiar absorbancji po kolejnych 1, 2 i 3 minutach. Obliczyć średnią zmianę absorbancji na minutę dla próbki badanej (PB) i próbki wzorcowej (PW) według wzorów:  
 $\Delta A/\text{min (PB)} = [\Delta A/\text{min (PB)}] - [\Delta A/\text{min (PZ)}]$   
 $\Delta A/\text{min (PW)} = [\Delta A/\text{min (PW)}] - [\Delta A/\text{min (PZ)}]$

### Obliczanie wyników

aktywność amylazy [U/l] =  $\frac{\Delta A/\text{min (PB)}}{\Delta A/\text{min (PW)}} \times \text{stężenie kalibratora [U/l]}$

### Metoda Reagent Start

Do kuwety napipetować:

	próbna zerowa (PZ)	próbna badana (PB)	próbna wzorcowa (PW)
1- REAGENT	1000 $\mu$ l	1000 $\mu$ l	1000 $\mu$ l
kalibrator	-	-	30 $\mu$ l
materiał badany	-	30 $\mu$ l	-
woda destylowana	30 $\mu$ l	-	-

Ogrzać do temperatury oznaczenia. Następnie dodać:

2- REAGENT	250 $\mu$ l	250 $\mu$ l	250 $\mu$ l
------------	-------------	-------------	-------------

Dokładnie wymieszać i po dokładnie 2 minutach inkubacji w temperaturze oznaczenia (37°C) odczytać absorbancję, powtórzyć pomiar absorbancji po kolejnych 1, 2 i 3 minutach. Obliczyć średnią zmianę absorbancji na minutę dla próbki badanej (PB) i próbki wzorcowej (PW) według wzorów:  
 $\Delta A/\text{min (PB)} = [\Delta A/\text{min (PB)}] - [\Delta A/\text{min (PZ)}]$   
 $\Delta A/\text{min (PW)} = [\Delta A/\text{min (PW)}] - [\Delta A/\text{min (PZ)}]$

### Obliczanie wyników

aktywność amylazy [U/l] =  $\frac{\Delta A/\text{min (PB)}}{\Delta A/\text{min (PW)}} \times \text{stężenie kalibratora [U/l]}$

### WARTOŚCI PRAWDIWE<sup>5</sup>

surowica / osocze	28 – 100 U/l	0,47 – 1,7 $\mu$ kat/l
mocz	$\leq 460$ U/l	$\leq 7,7$ $\mu$ kat/l

Zalecane jest opracowanie przez każde laboratorium własnych zakresów wartości prawidłowych charakterystycznych dla lokalnej populacji.

### KONTROLA JAKOŚCI

W celu wewnętrznej kontroli jakości, do każdej serii oznaczeń należy dołączyć następujące surowice kontrolne: CORMAY SERUM HN (Nr kat. 5-172) i CORMAY SERUM HP (Nr kat. 5-173) - dla oznaczeń w surowicy, CORMAY URINE CONTROL LEVEL 1 (Nr kat. 5-161) i LEVEL 2 (Nr kat. 5-162) - dla oznaczeń w moczu. Do kalibracji analizatorów automatycznych należy stosować CORMAY MULTICALIBRATOR LEVEL 1 (Nr kat. 5-174; 5-176) lub LEVEL 2 (Nr kat. 5-175; 5-177).

Krzywa kalibracyjna powinna być sporządzana co 12 tygodni, przy każdej zmianie serii odczynnika lub w razie potrzeby np. jeśli wartości oznaczenia surowic kontrolnych nie mieszczą się w wyznaczonym zakresie.

### CHARAKTERYSTYKA OZNACZENIA

Podane niżej rezultaty uzyskano używając analizatora automatycznego Biolis 24i Premium. W przypadku przeprowadzenia oznaczenia na innym analizatorze lub manualnie otrzymane wyniki mogą różnić się od podanych.

- Czułość:** 1,1 U/l (0,018  $\mu$ kat/l).
- Liniość:** do 2000 U/l (33,3  $\mu$ kat/l).

Dla wyższych aktywności amylazy, próbkę należy rozcieńczyć w stosunku 1:10 roztworem 0,9% NaCl oznaczenie powtórzyć, a wynik pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia.

### Specyficzność / Interferencje

Hemoglobina do 0,156 g/dl, bilirubina do 20 mg/dl, kwas askorbinowy do 62 mg/l, triglicerydy do 1250 mg/dl i glukoza do 2000 mg/dl nie wpływają na wyniki oznaczenia.

### Pracjalność

Podawalność (run to run) n = 20	Średnia [U/l]	SD [U/l]	CV [%]
poziom 1	71,9	0,76	1,05
poziom 2	384,2	1,58	0,41
Odtwarzalność (day to day) n = 80	Średnia [U/l]	SD [U/l]	CV [%]
poziom 1	71,3	0,98	1,37
poziom 2	391,6	3,00	0,77

### Porównanie metody

Porównanie wyników oznaczeń amylazy wykonanych na **Biolis 24i Premium** (y) i na **ADVIA 1650** (x), z użyciem 66 próbek, dało następujące wyniki:  
 $y = 1,0273 x - 2,8482 \text{ U/l}$   
 $R = 0,9999$  (R – współczynnik korelacji)

### UTYLIZACJA ODPADÓW

Postępować zgodnie z aktualnymi przepisami.

### LITERATURA

- Pesce, A.J., Kaplan, L.A.: "Methods in Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1987).
- Burtis C.A., Ashwood E.R.: "Tietz Textbook of Clinical Chemistry", W.B. Saunders Company Ed. (3rd edition, 1999).
- Lorentz K. Approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 9. IFCC method for alpha-amylase (1,4-alpha-D-glucan 4-glycanohydrolase, EC 3.2.1.1). International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC). Committee on Enzymes. Clin Chem Lab Med. 1998 Mar;36(3):185-203.
- Junge W, Wortmann W, Wilke B, Waldenström J, Kurrle-Weitenhiller A, Finke J, Klein G. Development and evaluation of assays for the determination of total and pancreatic amylase at 37 degrees C according to the principle recommended by the IFCC. Clin Biochem. 2001 May;34:607-15.
- Alan H.B. Wu: Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests, 4th ed. WB Saunders, 100-104, (2006).
- Hohenwallner W, Hagele EO, Scholer A et al. Ber Oster Ges Klin Chem 1983;6:101-112.
- Tietz N.W., ed. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders, 46-8 (1995).

Data wydania: 10. 2023.

## AMYLASE EPS

<b>Kit name</b>	(EN)
Liquick Cor-AMYLASE EPS 30	<b>Cat. No</b> 2-332
Liquick Cor-AMYLASE EPS 60	2-333
Liquick Cor-AMYLASE EPS 120	2-334
HC-AMYLASE EPS	4-576
OS-AMYLASE EPS	9-476

### INTENDED USE

Diagnostic kit for determination of  $\alpha$ -amylase activity used both for manual assay (Sample Start and Reagent Start method) and in several automatic analysers.

The reagents must be used only for *in vitro* diagnostic, by suitably qualified laboratory personnel, only for the intended purpose, under appropriate laboratory conditions.

### INTRODUCTION

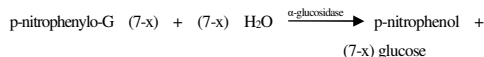
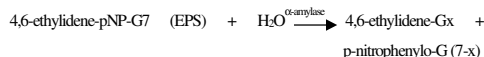
$\alpha$ -Amylases are hydrolytic enzymes which hydrolyze 1,4- $\alpha$ -glucosidic bond in starch and other similar polysaccharides to maltose and other oligosaccharides. Several types of amylases can be distinguished, depending on the organ they are originating from.  $\alpha$ -amylase is the most commonly measured in the diagnosis of acute pancreatitis, when its activity in serum is very high. Elevation of  $\alpha$ -amylase activity in serum is also accompanied by increased excretion of enzyme in urine which can last longer than in the blood. Because of that activity in  $\alpha$ -amylase in urine is used as a indicator of acute pancreatitis. Hyperamylasemia occurs also in chronic pancreatitis, failures of kidneys, lungs, diseases of the salivary glands, cerebral traumas, surgical interventions and macroamylasemia. To confirm pancreatic specificity it is recommended to determine also other pancreas specific enzyme like lipase.

### METHOD PRINCIPLE

Enzymatic colorimetric method, with EPS substrate, in accordance to recommendations of IFCC – International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (modified IFCC method).

$\alpha$ -Amylase catalyzes hydrolysis of substrate 4,6-ethylidene-(G7)-p-nitrophenyl-(G1)- $\alpha$ -D-maltoheptaoside (EPS, Ethylidene Protected Substrate). Ethylidene group prevents the substrate from breaking down because of exo-enzymes activity, therefore in absence of  $\alpha$ -amylase no increase of absorbance is observed.

$\alpha$ -Amylase hydrolyses the substrate into smaller fragments which are acted upon by  $\alpha$ -glucosidase, causing the ultimate release of chromophore p-nitrophenol (pNP) and glucose.



Increase of absorbance related to formation of p-nitrophenol is proportional to the  $\alpha$ -amylase activity in sample and is measured spectrophotometrically at 405 nm wavelength.

### REAGENTS

<b>Package</b>	<b>Liquick Cor-AMYLASE EPS 30</b>	<b>Liquick Cor-AMYLASE EPS 60</b>	<b>Liquick Cor-AMYLASE EPS 120</b>
1-REAGENT	5 x 24 ml	5 x 48 ml	5 x 96 ml
2-REAGENT	1 x 30 ml	1 x 60 ml	1 x 120 ml
	<b>HC-AMYLASE EPS</b>	<b>OS-AMYLASE EPS</b>	
1-REAGENT	2 x 48.5 ml	2 x 53.5 ml	
2-REAGENT	2 x 12.2 ml	2 x 16 ml	

The reagents when stored at 2-8°C are stable up to expiry date printed on the package. The reagents are stable for 12 weeks on board the analyser at 2-10°C.

### Working reagent preparation and stability

Assay can be performed with use of separate 1-REAGENT and 2-REAGENT or with use of working reagent. For working reagent preparation mix gently **4 parts** of 1-REAGENT with **1 part** of 2-REAGENT. Avoid foaming.

Stability of working reagent:	4 weeks at 2-8°C
	5 days at 18-25°C

### Concentrations in the test

HEPES buffer, pH 7.2	52.5 mmol/l
sodium chloride	87 mmol/l
magnesium chloride	12.6 mmol/l
calcium chloride	0.075 mmol/l
$\alpha$ -glucosidase	$\geq 4\text{ kU/l}$
4,6-ethylidene G7pNP (EPS)	$> 4\text{ mmol/l}$
stabilizers and preservatives	

### Warnings and notes

- Prevent the reagents from microbiological contamination and from saliva and sweat  $\alpha$ -amylase.
- Protect from direct sunlight.
- The reagents must be clear, do not use if turbid.
- A slight yellow colour of 2-REAGENT does not influence the reagent performance.
- 1-REAGENT and 2-REAGENT meeting the criteria for classification in accordance with Regulation (EC) No 1272/2008.

### Ingredients:

1-REAGENT and 2-REAGENT contain reaction mass of 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one and 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1).

### Warning



- H317 May cause an allergic skin reaction.
- H412 Harmful to aquatic life with long lasting effects.
- P280 Wear protective gloves, protective clothing, eye protection or face protection.
- P302 + P352 IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water.
- P273 Avoid release to the environment.

### ADDITIONAL EQUIPMENT

- automatic analyser or photometer able to read at 405 nm;
- thermostat at 37°C;
- general laboratory equipment;

### SPECIMEN

Serum or plasma collected on heparin, free from hemolysis, urine. Do not use anticoagulants: EDTA, citrates and oxalates as they inhibit amylase activity.

Serum / plasma can be stored for 7 days at 15-25°C or for one month at 2-8°C.<sup>7</sup>

Urine can be stored for 2 days at 15-25°C or for 10 days at 2-8°C.<sup>6</sup> Amylase is very unstable in acid urine. Adjust pH to approximately 7.0 before storage. Nevertheless it is recommended to perform the assay with freshly collected samples!

### PROCEDURE

Applications for analyzers are available on request.

### Manual procedure

wavelength	405 nm
temperature	37°C
cuvette	1 cm

### Sample Start method

Pipette into the cuvettes:

	blank (B)	test (T)	calibrator (C)
working reagent	1000 $\mu$ l	1000 $\mu$ l	1000 $\mu$ l
Bring up to the temperature of determination. Then add:			
calibrator	-	-	20 $\mu$ l
sample	-	20 $\mu$ l	-
distilled water	20 $\mu$ l	-	-

Mix well and after 2 minutes of incubation at adequate temperature (37°C) read the absorbance, repeat the reading after next 1, 2 and 3 minutes.

Calculate the mean absorbance change per minute of tested sample (T) and calibrator (C):

$$\Delta A/\text{min (T)} = [\Delta A/\text{min (T)}] - [\Delta A/\text{min (B)}]$$

$$\Delta A/\text{min (C)} = [\Delta A/\text{min (C)}] - [\Delta A/\text{min (B)}]$$

### Calculation

$$\text{amylase activity [U/l]} = \frac{\Delta A/\text{min (T)}}{\Delta A/\text{min (C)}} \times \text{calibrator concentration [U/l]}$$

### Reagent Start method

Pipette into the cuvettes:

	blank (B)	test (T)	calibrator (C)
1- REAGENT	1000 $\mu$ l	1000 $\mu$ l	1000 $\mu$ l
Bring up to the temperature of determination. Then add:			
calibrator	-	-	30 $\mu$ l
sample	-	30 $\mu$ l	-
distilled water	30 $\mu$ l	-	-

Mix well and after 1 min. of incubation add:

2- REAGENT	250 $\mu$ l	250 $\mu$ l	250 $\mu$ l
------------	-------------	-------------	-------------

Mix well and after 2 minutes of incubation at adequate temperature (37°C) read the absorbance, repeat the reading after next 1, 2 and 3 minutes.

Calculate the mean absorbance change per minute of tested sample (T) and calibrator (C):

$$\Delta A/\text{min (T)} = [\Delta A/\text{min (T)}] - [\Delta A/\text{min (B)}]$$

$$\Delta A/\text{min (C)} = [\Delta A/\text{min (C)}] - [\Delta A/\text{min (B)}]$$

### Calculation

$$\text{amylase activity [U/l]} = \frac{\Delta A/\text{min (T)}}{\Delta A/\text{min (C)}} \times \text{calibrator concentration [U/l]}$$

### REFERENCE VALUES<sup>5</sup>

serum / plasma	28 – 100 U/l	0.47 – 1.7 $\mu$ kat/l
urine	$\leq 460$ U/l	$\leq 7.7$ $\mu$ kat/l

It is recommended for each laboratory to establish its own reference ranges for local population.

### QUALITY CONTROL

For internal quality control it is recommended to use with each batch of samples the following controls:

CORMAY SERUM HN (Cat. No 5-172) and CORMAY SERUM HP (Cat. No 5-173) for determination in serum  
CORMAY URINE CONTROL LEVEL 1 (Cat. No 5-161) and LEVEL 2 (Cat. No 5-162) for determination in urine.

For the calibration of automatic analysers systems the CORMAY MULTICALIBRATOR LEVEL 1 (Cat. No 5-174; 5-176) or LEVEL 2 (Cat. No 5-175; 5-177) is recommended.

The calibration curve should be prepared every 12 weeks, with change of reagent lot number or as required e.g. quality control findings outside the specified range.

### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The following results have been obtained using the automatic analyser Biolis 24i Premium. Results may vary if a different instrument or a manual procedure is used.

- Sensitivity:** 1.1 U/l (0.018  $\mu$ kat/l).
- Linearity:** up to 2000 U/l (33.3  $\mu$ kat/l).

For higher amylase activity, dilute the sample with 0.9% NaCl at a ratio 1:10 and repeat the assay. Multiply the result by the dilution factor.

- Specificity / Interferences**

Haemoglobin up to 0.156 g/dl, bilirubin up to 20 mg/dl, ascorbate up to 62 mg/l, triglycerides up to 1250 mg/dl and glucose up to 2000 mg/dl do not interfere with the test.

### Precision

Repeatability (run to run) n = 20	Mean [U/l]	SD [U/l]	CV [%]
	level 1	71.9	0.76
level 2	384.2	1.58	0.41
Reproducibility (day to day) n = 80	Mean [U/l]	SD [U/l]	CV [%]
	level 1	71.3	0.98
level 2	391.6	3.00	0.77

### Method comparison

A comparison between amylase values determined at **Biolis 24i Premium** (y) and at **ADVA 1650** (x) using 66 samples gave following results:

$$y = 1.0273 x - 2.8482 \text{ U/l;}$$

$$R = 0.9999 \quad (R - \text{correlation coefficient})$$

### WASTE MANAGEMENT

Please refer to local legal requirements.

### LITERATURE

- Pesce, A.J., Kaplan, L.A.: "Methods in Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1987).
- Burtis C.A., Ashwood E.R.: "Tietz Textbook of Clinical Chemistry", W.B. Saunders Company Ed. (3<sup>rd</sup> edition, 1999).
- Lorentz K. Approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 9. IFCC method for alpha-amylase (1,4-alpha-D-glucan 4-glucohydrolase, EC 3.2.1.1). International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC). Committee on Enzymes. Clin Chem Lab Med. 1998 Mar;36(3):185-203.
- Junge W, Wortmann W, Wilke B, Waldenström J, Kurlle-Weittenhiller A, Finke J, Klein G. Development and evaluation of assays for the determination of total and pancreatic amylase at 37 degrees C according to the principle recommended by the IFCC. Clin Biochem. 2001 May;34:607-15.
- Alan H.B. Wu: Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests, 4th ed. WB Saunders, 100-104, (2006).
- Hohenwallner W, Hagele EO, Scholer A et al. Ber Oster Ges Klin Chem 1983;6:101-112.
- Tietz N.W., ed. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders, 46-8 (1995).

**Date of issue:** 10. 2023.

## AMYLASE EPS

Название набора	(RUS) Кат. №	HC- AMYLASE EPS	OS- AMYLASE EPS
Liquick Cor-AMYLASE EPS 30	2-332		
Liquick Cor-AMYLASE EPS 60	2-333	1-REAGENT	2 x 48,5 ml
Liquick Cor-AMYLASE EPS 120	2-334	2-REAGENT	2 x 12,2 ml
HC-AMYLASE EPS	4-576		
OS-AMYLASE EPS	9-476		

### ПРЕДПОЛАГАЕМОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

Диагностический набор для определения активности  $\alpha$ -амилазы. Набор предназначен как для ручного определения (методы Sample Start, Reagent Start), так и для определений при помощи автоматических анализаторов.

Реагенты должны использоваться только для диагностики *in vitro*, квалифицированным лабораторным персоналом, в целях, для которых они предназначены, в соответствующих лабораторных условиях.

### ВВЕДЕНИЕ

$\alpha$ -Амилазы – это гидролитические ферменты, которые осуществляют гидролиз  $\alpha$ -1 $\rightarrow$ 4 гликозидных связей крахмала и подобных полисахаридов до мальтозы и других олигосахаридов. Различают разные типы амилаз человека в зависимости от органа, в котором продуцируются ферменты. Чаще всего определение  $\alpha$ -амилазы показано при диагностике острого панкреатита, при котором активность  $\alpha$ -амилазы в сыворотке необычайно высока. Возрастанию активности  $\alpha$ -амилазы в сыворотке сопутствует значительное повышение выделения энзима с мочой, более длительное, чем всплеск активности в крови. Поэтому определение  $\alpha$ -амилазы в моче используется в качестве индикатора острого панкреатита.

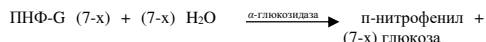
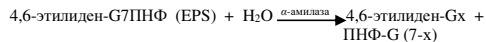
Гиперамилаземия встречается также при хроническом панкреатите, почечной и легочной недостаточностях, заболеваниях слюнных желез, мозговых травмах, при хирургических вмешательствах и макроамилаземи.

Для подтверждения панкреатита рекомендуется также произвести исследование прочих специфических ферментов поджелудочной железы – напр., липазы.

### ПРИНЦИП МЕТОДА

Энзиматический колориметрический метод, с субстратом EPS, основанный на рекомендациях Международной Федерации Клинической Химии (модифицированный метод IFCC).

$\alpha$ -Амилаза катализирует гидролиз 4,6-этилиден(G7)-п-нитрофенил(G1)- $\alpha$ -D-мальтогептозида (EPS, Ethylidene Protected Substrate: 4,6-этилиден-G7ПНФ; ПНФ – п-нитрофенил, G – глюкоза). Этилиденовая группа предохраняет субстрат от распада в результате воздействия экзоферментов, поэтому в случае отсутствия  $\alpha$ -амилазы в пробе не наблюдается роста абсорбции.  $\alpha$ -Амилаза гидролизует субстрат на меньшие фрагменты, из которых впоследствии, под воздействием фермента  $\alpha$ -глюкозидазы освобождается хромофор п-нитрофенил и глюкоза.



Рост абсорбции при освобождении п-нитрофенила прямо пропорционален активности  $\alpha$ -амилазы в исследуемом образце и измеряется спектрофотометрически при длине волны 405 нм.

### РЕАГЕНТЫ

#### Состав набора

	Liquick Cor- AMYLASE EPS 30	Liquick Cor- AMYLASE EPS 60	Liquick Cor- AMYLASE EPS 120
1-REAGENT	5 x 24 ml	5 x 48 ml	5 x 96 ml
2-REAGENT	1 x 30 ml	1 x 60 ml	1 x 120 ml

AMYLASE EPS

51\_03\_08\_009\_03

При температуре 2-8°C, реагенты сохраняют стабильность в течении всего срока годности, указанного на упаковке. Реагенты на борту анализатора при температуре 2-10°C стабильны 12 недель.

### Приготовление и стабильность рабочего реагента

Определение может быть выполнено как с раздельным использованием реагентов 1-REAGENT и 2-REAGENT, так и с использованием рабочего реагента. Для приготовления рабочего реагента следует аккуратно смешать 4 части 1-REAGENT с 1 частью 2-REAGENT. Избегать пенообразования.

Стабильность рабочего реагента: 4 недели при 2-8°C  
5 дней при 18-25°C

### Концентрации компонентов в реагентах

буфер HEPES, pH 7,2	52,5 ммоль/л
хлорид натрия	87 ммоль/л
хлорид магния	12,6 ммоль/л
хлорид кальция	0,075 ммоль/л
$\alpha$ -глюкозидаза	$\geq 4$ Ед/л
4,6-этилиден-G7ПНФ (EPS)	$> 4$ ммоль/л
стабилизаторы и консерванты	

### Предостережения и примечания

- Предохранять от попадания микрофлоры, а также амилазы, содержащейся в слюне и поте.
- Предохранять от прямых солнечных лучей и загрязнения
- Реактивы должны сохранять прозрачность, не использовать в случае помутнения. Допустим желтоватый оттенок 2-REAGENT, который не влияет на результаты определений.
- 1-REAGENT и 2-REAGENT соответствуют критериям классификации согласно постановлению (ЕС) № 1272/2008.

### Ингредиенты:

1-REAGENT и 2-REAGENT содержит постреакционная смесь 5-хлор-2-метил-2Н-изотиазол-3-он и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он (3:1)

### Внимание

- H317 Может вызывать аллергическую кожную реакцию.
- H412 Вреден для водных организмов с долгосрочными последствиями.
- P280 Пользоваться защитными перчатками, защитной одеждой, средствами защиты глаз или лица.
- P302 + P352 При попадании на кожу: Промыть большим количеством воды.
- P273 Избегать попадания в окружающую среду.

### ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

- автоматический анализатор либо фотометр, позволяющий снимать показания на длине волны 405 нм;
- термостат на 37°C;
- общее лабораторное оборудование;

### БИОЛОГИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ

Сыворотка или плазма крови собранной на гепарин, без следов гемолиза, моча.

Не использовать антикоагулянты: ЭДТА, солей лимонной и щавелевой кислоты, так как они ингибируют активность амилазы. Сыворотка / плазма могут храниться 7 дней при темп. 15-25°C либо месяц при темп. 2-8°C.<sup>7</sup>

Моча может храниться 2 дня при темп. 15-25°C либо 10 дней при темп. 2-8°C.<sup>6</sup> Амилаза крайне нестабильна в моче с кислым pH. Перед хранением образца довести pH примерно до 7,0.

Тем не менее рекомендуется производить исследования на свежезвзятом биологическом материале!

### ПРОЦЕДУРА ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Программы для анализаторов предоставляем на желание клиентов

### Мануальное определение

длина волны	405 нм
температура	37°C
кювета	1 см

### Метод Sample Start

В кювету поместить:

	бланк по реагенту (БР)	образец исследуемый (ОИ)	образец стандартный (ОС)
рабочий реагент	1000 мкл	1000 мкл	1000 мкл

Подогреть до температуры определения. Затем добавить:

калибратор	-	-	20 мкл
исследуемый материал	-	20 мкл	-
дистиллированная вода	20 мкл	-	-

Хорошо перемешать, и после 2 минут инкубации при температуре определения измерить коэффициент поглощения, повторить измерения после следующих 1, 2 и 3 минут.

Вычислить значение изменения абсорбции в минуту для исследуемого А(ОИ) и стандартного А(ОС) образцов:

$\Delta A/\text{мин (ОИ)} = [\Delta A/\text{мин (ОИ)}] - [\Delta A/\text{мин (БР)}]$

$\Delta A/\text{мин (ОС)} = [\Delta A/\text{мин (ОС)}] - [\Delta A/\text{мин (БР)}]$

### Расчет результатов

активность [Ед/л] =  $\frac{\Delta A/\text{мин (ОИ)}}{\Delta A/\text{мин (ОС)}}$  x концент. калибратора [Ед/л]

### Метод Reagent Start

В кювету поместить:

	бланк по реагенту (БР)	образец исследуемый (ОИ)	образец стандартный (ОС)
1-REAGENT	1000 мкл	1000 мкл	1000 мкл

Подогреть до температуры определения. Затем добавить:

калибратор	-	-	30 мкл
исследуемый материал	-	30 мкл	-
дистиллированная вода	30 мкл	-	-

Хорошо перемешать и через 1 мин. инкубации добавить:

2-REAGENT	250 мкл	250 мкл	250 мкл
-----------	---------	---------	---------

Хорошо перемешать, и после 2 минут инкубации при температуре определения измерить коэффициент поглощения, повторить измерения после следующих 1, 2 и 3 минут.

Вычислить значение изменения абсорбции в минуту для исследуемого А(ОИ) и стандартного А(ОС) образцов:

$\Delta A/\text{мин (ОИ)} = [\Delta A/\text{мин (ОИ)}] - [\Delta A/\text{мин (БР)}]$

$\Delta A/\text{мин (ОС)} = [\Delta A/\text{мин (ОС)}] - [\Delta A/\text{мин (БР)}]$

### Расчет результатов

активность [Ед/л] =  $\frac{\Delta A/\text{мин (ОИ)}}{\Delta A/\text{мин (ОС)}}$  x концент. калибратора [Ед/л]

### РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ<sup>5</sup>

сыворотка/плазма	28 – 100 Ед/л	0,47 – 1,7 мккат/л
моча	$\leq 460$ Ед/л	$\leq 7,7$ мккат/л

Каждой лаборатории рекомендуется разработать собственные нормы, характерные для обследуемого контингента.

### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для внутреннего контроля качества рекомендуется использовать для каждой серии измерений:

CORMAY SERUM HN (Кат.№ 5-172) и CORMAY SERUM HP (Кат.№ 5-173) - при тестировании сыворотки,  
CORMAY URINE CONTROL LEVEL 1 (Кат. № 5-161) и LEVEL 2 (Кат. № 5-162) - при исследованиях мочи.

Для калибровки рекомендуется использовать калибраторы CORMAY MULTICALIBRATOR LEVEL 1 (Кат. № 5-174; 5-176) или LEVEL 2 (Кат. № 5-175; 5-177).

Калибровку рекомендуется проводить каждые 12 недель, при каждой смене лота реагентов и в случае необходимости, напр. если результаты определения контрольных сывороток не попадают в референтный диапазон.

AMYLASE EPS

str. / page / стр. 5/6

### ХАРАКТЕРИСТИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Эти метрологические характеристики были получены при использовании автоматического анализатора Biolis 24i Premium. Результаты, полученные на других анализаторах и вручную, могут отличаться.

- Чувствительность:** 1,1 Ед/л (0,018 мккат/л).

- Линейность:** 2000 Ед/л (33,3 мккат/л).

Для более высоких концентраций амилазы, пробу следует развести в соотношении 1:10 0,9% NaCl и повторить определение. Результат определения умножить на коэффициент разведения.

- Специфичность / интерференции**

Гемоглобин до 0,156 г/дл, билирубин до 20 мг/дл, аскорбиновая кислота до 62 мг/л, триглицериды до 1250 мг/дл и глюкоза до 2000 мг/дл не влияют на результаты определений.

- Точность**

Повторяемость (между сериями) n = 20	Среднее [Ед/л]	SD [Ед/л]	CV [%]
уровень 1	71,9	0,76	1,05
уровень 2	384,2	1,58	0,41
Воспроизводимость (изо дня в день) n = 80	Среднее [Ед/л]	SD [Ед/л]	CV [%]
уровень 1	71,3	0,98	1,37
уровень 2	391,6	3,00	0,77

- Сравнение метода**

Сравнение результатов определения активности амилазы, произведенных на анализаторах Biolis 24i Premium (y) и ADVIA 1650 (x) для 66 образцов дало следующие результаты:

$y = 1,0273x - 2,8482$  Ед/л;

$R = 0,9999$  (R – коэффициент корреляции)

### УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

В соответствии с локальными требованиями.

### ЛИТЕРАТУРА

- Pesce, A.J., Kaplan, L.A.: "Methods in Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1987).
- Burtis C.A., Ashwood E.R.: "Tietz Textbook of Clinical Chemistry", W.B. Saunders Company Ed. (3rd edition, 1999).
- Lorentz K. Approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 9. IFCC method for alpha-amylase (1,4-alpha-D-glucan 4-glucohydrolase, EC 3.2.1.1). International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC). Committee on Enzymes. Clin Chem Lab Med. 1998 Mar;36(3):185-203.
- Junge W, Wortmann W, Wilke B, Waldenström J, Kurrel-Weittenhiller A, Finke J, Klein G. Development and evaluation of assays for the determination of total and pancreatic amylase at 37 degrees C according to the principle recommended by the IFCC. Clin Biochem. 2001 May;34:607-15.
- Alan H.B. Wu: Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests, 4th ed. WB Saunders, 100-104, (2006).
- Hohenwallner W, Hagele EO, Scholer A et al. Ber Oster Ges Klin Chem 1983;6:101-112.
- Tietz N.W., ed. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders, 46-8 (1995).

Дата создания: 10. 2023.

str. / page / стр. 6/6