



Reflotron Pancreatic Amylase

REF		SYSTEM
1112679	15	Reflotron

English

Intended use

In vitro test for the quantitative determination of the specific activity of pancreatic α-amylase (EC 3.2.1.1) in blood, serum, plasma or urine with Reflotron systems.

Summary

The α-amylase (1,4-α,D-glycanohydrolase, EC 3.2.1.1) catalyzes the hydrolytic breakdown of polymeric carbohydrates like amylose, amylopectin and glycogen by cleavage of 1,4-α-glucosidic bonds. In poly- and oligosaccharides, several glucosidic bonds are simultaneously hydrolyzed. Being the smallest unit, maltotriose is cleaved into maltose and glucose, at a much slower rate.

Two types of α-amylase are distinguished: the pancreatic type (P-type) and the salivary gland type (S-type). The P-type comes almost exclusively from the pancreas, and is thus organ-specific; the S-type can have various sources.

On account of the rather non-specific clinical symptoms of pancreatic disease, enzyme determinations are of particular value in the diagnosis of these disorders. The determination of pancreatic α-amylase rather than total α-amylase is therefore of advantage here. The determination of pancreatic α-amylase is suitable for the diagnosis and monitoring of acute pancreatitis and acute attacks of chronic pancreatitis. Pancreatic α-amylase is of comparable clinical sensitivity and specificity to lipase as established pancreas-specific enzyme.

Test principle

After application to the test strip, the sample flows into the reaction zone, where, in the case of blood samples, the separation of the erythrocytes from the plasma occurs.

The salivary gland α-amylase is inhibited by 2 monoclonal antibodies. The pancreatic α-amylase cleaves the substrate indoly-α,D-maltoheptaoside; the α-glucosidase contained in the test leads to the production of indoxyl and glucose. The released indoxyl is coupled with 2-methoxy-4-morpholinophenyldiazoniumtetrachlorozinkate to give a purple dye. The amount of dye formed per unit of time is directly proportional to the α-amylase activity:¹

	pancreatic α-amylase	
indoly-α,D-maltoheptaoside	→	indoxyl + glucose
	α-glucosidase	

indoxyl + 2-methoxy-4-morpholinophenyl-diazoniumtetrachlorozinkate	→	purple dye
--	---	------------

The enzyme activity is measured kinetically at a wavelength of 567 nm and 37 °C, and is displayed after about 175 seconds in U/L or μkat/L.

Reagents

Components per test:

Indoly-α,D-maltoheptaoside 81 μg; α-glucosidase (yeast rec.) ≥ 3.1 U; 2-methoxy-4-morpholinophenyldiazoniumtetrachlorozinkate 6,8 μg; monoclonal antibodies 2,52 μg; buffer.

Precautions and warnings

For in vitro diagnostic use.

Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

Disposal of all waste material should be in accordance with local guidelines.

Safety data sheet available for professional user on request.

Avoid any contact with the application zone of a test strip (e.g., during pipetting of sample).

Reagent handling

Test strips are ready-for-use.

Storage and stability

Store at 2–30 °C.

Do not use the test strip after the specified expiration date.

Specimen collection and preparation

For specimen collection and preparation only use suitable tubes or collection containers.

Capillary blood; whole blood collected in standard sample collection tubes; serum; heparinized blood, or heparinized plasma; urine.

Use fresh capillary or venous blood immediately after collection.

Use only heparin (preferably Li-heparin) as anticoagulant. Do not use any other anticoagulants or additives.

Heparinized blood kept in closed containers must be used within 8 hours. After precipitation of the cellular components, the supernatant plasma can be used.

If heparinized single-use containers or capillary pipettes are used, please observe the stability data given by the manufacturer.

Serum and heparinized plasma collected in standard sample collection tubes is stable for 7 days at 4-25 °C, or for 1 month at 2-8 °C.²

Stability in urine: 10 days at 4–8 °C; 2 days at 20–25 °C

Sample volume: 30 μL

Materials provided

1 container with 15 test strips

Materials required (but not provided)

- Reflotron instrument
 - Reflotron pipette
 - Reflotron pipette tips
 - Reflotron capillary tubes
- Reflotron Precinorm U and Reflotron Precipath U

- 0,9 % NaCl

General laboratory equipment

Assay

For optimum performance of the assay follow the directions given in this document. Refer to the appropriate operator’s manual for instrument-specific instructions.

- Remove a test strip from the container. Tightly recap the container immediately after removing a test strip.
- Peel off the aluminium protective foil, taking care not to bend the test strip.
- All Reflotron tests require a sample volume of 30 μL.
- Apply the required volume of sample onto the centre of the red application zone using a pipette (e.g., Reflotron pipette) – being careful not to touch the application zone. Avoid air-bubbles.
- Open the flap or sliding cover. Within 15 seconds of applying the sample, place the test strip onto the guide, and slide it forward horizontally until it locks into place. Close the sliding cover or flap.
- The test parameter abbreviation is shown on the display, if the test strip has been correctly inserted and the magnetic code has been read. The result is displayed depending on the setting of the instrument.

Calibration

The function curve for the Reflotron Pancreatic Amylase assay for converting reflectance values into activities is defined for each lot using the pancreatic α-amylase liquid method from Roche Diagnostics.

The parameters of the curve are automatically transferred to the instrument via the magnetic strip during testing.

Quality control

For quality control, use Reflotron Precinorm U and Reflotron Precipath U.

The control intervals and limits should be adapted to each laboratory’s individual requirements. Values obtained should fall within the defined limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the defined limits.

Follow the applicable government regulations and local guidelines for quality control.

Calculation

The pancreatic amylase activity is calculated automatically from the measurements taken, as well as function and conversion factors read from the magnetic strip on the lower face of each test strip. The enzyme activity is shown for 25 °C, 30 °C or 37 °C in U/L or μkat/L, depending on the way the instrument has been set.

Limitations - interference

The following had no influence on the results in the concentration ranges tested (criterion: recovery ± 10 % of baseline):³ haematocrit up to 55 %, haemoglobin up to 0,37 mmol/L (6 g/L), bilirubin up to 360 μmol/L (21 mg/dL), triglycerides up to 25,9 mmol/L (2272 mg/dL), cholesterol up to 14,8 mmol/L (572 mg/L), other endogenous substances and 26 further drugs.

Saliva and sweat contain α-amylase. Care must be taken to avoid touching the application zone, or test area. The residual activity of salivary gland amylase is approx. 7 %. In rare cases, very high activities of salivary gland α-amylase can lead to elevated results for pancreatic α-amylase. Toxic concentrations of paracetamol have been found to produce reduced pancreatic α-amylase activities. Ascorbic acid concentrations above 10 mg/dL lead to increased recovery.

High maltose concentrations of > 300 mg/dL lead to falsely low test results. As a result, patients undergoing peritoneal dialysis cannot be tested with the Reflotron Amylase or Reflotron Pancreatic Amylase assays because of their high maltose levels.

For diagnostic purposes, the results should always be assessed in conjunction with the patient’s medical history, clinical examination and other findings.

Measuring range

Blood, serum, plasma: 14–850 U/L or 0,23–14,17 μkat/L.

If the pancreatic α-amylase activity measured in serum or plasma is above the measuring range for the Reflotron Pancreatic Amylase assay (indicated by an asterisk next to the displayed value or the message DILUTE P-AM) the sample may be diluted 1 + 3 with physiological saline solution. Multiply the result by a factor of 4.

Urine: 57,1–2380 U/L or 0,95–39,66 μkat/L. Dilute the urine samples 1 + 3 with distilled water. Multiply the result by a factor of 4.

Expected values

Adults: Blood, serum, plasma:⁴ < 53 U/L or < 0,89 μkat/L (37 °C, 30 °C, 25 °C).

Random urine:⁴ < 325 U/L or < 5,42 μkat/L (37 °C, 30 °C, 25 °C).

For technical reasons the value is the same at 37 °C, 30 °C and 25 °C.

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference ranges.

Specific performance data

The data for the Reflotron Pancreatic Amylase assay were determined in evaluation studies. The majority of the test results were within the given ranges.

Precision

Repeatability (within-run precision):

CV (coefficient of variation) 2,6 % in the low range, 2,3 % in the pathological range; sample material: heparinized blood.

Intermediate precision (between-day precision):

CV 4,0 % in the normal range, 4,5 % in the pathological range; sample material: control sera.

Method comparison

A comparison of the Reflotron Pancreatic Amylase assay (y) with the pancreatic α-amylase PNP assay (x) using either serum, heparinized blood or heparinized plasma gave the following correlations: y = 0,97x − 3,3; n = 50; r = 0,996

For further information, please refer to the appropriate operator’s manual for the analyzer concerned, and the Method Sheets of all necessary components.

A point (period/stop) is always used in this Method Sheet as the decimal separator to mark the border between the integral and the fractional parts of a decimal numeral. Separators for thousands are not used. Significant additions or changes are indicated by a change bar in the margin.

Deutsch
Anwendungszweck
In-vitro-Test zur quantitativen Bestimmung der spezifischen Aktivität der Pankreas-α-Amylase (EC 3.2.1.1) in Blut, Serum, Plasma oder Urin mit Reflotron Systemen.
Zusammenfassung
Die α-Amylase (1,4-α-D-Glycanohydrolase, EC 3.2.1.1) katalysiert den hydrolytischen Abbau von polymeren Kohlenhydraten wie Amylose, Amylopektin und Glykogen durch Spaltung von 1,4-α-glucosidischen Bindungen. Bei Poly- und Oligosacchariden werden immer mehrere glucosidische

Bindungen gleichzeitig hydroliert. Als kleinste Einheit wird Maltotriose, allerdings mit wesentlich geringerer 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.

Da Enzymbestimmungen aufgrund der wenig spezifischen klinischen Symptomatik von Pankreaserkrankungen vor allem in der Pankreas-Diagnostik einen hohen Stellenwert haben, ist hier die Bestimmung der Pankreas-α-Amylase anstelle der Gesamt-α-Amylase von Vorteil. Die Bestimmung der Pankreas-α-Amylase eignet sich zur Diagnose und Verlaufskontrolle der akuten Pankreatitis und akuten Schüben der chronischen Pankreatitis. Die Pankreas-α-Amylase ist in klinischer Sensitivität und Spezifität der Lipase als anerkannt Pankreas-spezifischem Enzym vergleichbar.

Testprinzip

Nach dem Auftragen auf den Teststreifen fließt die Probe, bei Blut unter Abtrennung der Erythrozyten, in die Reaktionszone.

Die Hemmung der Speichel-α-Amylase erfolgt mit 2 monoklonalen Antikörpern. Die Pankreas-α-Amylase spaltet das Substrat Indoly-α,D-maltoheptaosid; durch das im Test enthaltene Enzym α-Glucosidase entstehen Indoxyl und Glucose. Das freiwerdende Indoxyl wird mit 2-Methoxy-4-morpholino-phenyldiazonium-tetrachlorzinkat zu einem rotvioletten Farbstoff gekuppelt. Die Menge des gebildeten Farbstoffs pro Zeiteinheit ist direkt proportional zur Aktivität der α-Amylase:¹

	Pancreas-α-Amylase	
Indoly-α,D-maltoheptaosid	→	Indoxyl + Glucose
	α-Glucosidase	

Indoxyl + 2-Methoxy-4-morpholino-phenyldiazonium-tetrachlorzinkat	→	rotvioletter Farbstoff
---	---	------------------------

Die Enzymaktivität wird bei einer Wellenlänge von 567 nm und 37 °C kinetisch gemessen. Das Ergebnis wird nach ca. 175 Sekunden in U/L oder μkat/L angezeigt.

Reagenzien

Inhaltsstoffe pro Testfeld:

Indoly-α,D-maltoheptaosid 81 μg; α-Glucosidase (Hefe rek.) ≥ 3.1 U; 2-Methoxy-4-morpholino-phenyldiazonium-tetrachlorzinkat 6,8 μg; monoklonale Antikörper 2,52 μg; Puffer.

Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

In-vitro-Diagnostikum.

Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Die Entsorgung aller Abfälle ist gemäß den lokalen Richtlinien durchzuführen.

Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage für berufsmäßige Benutzer erhältlich.

Auftragzone eines Reagenzträgers (z.B. beim Auftragen einer Probe) nicht berühren.

Reagenz-Handhabung

Die Teststreifen sind gebrauchsfertig.

Lagerung und Haltbarkeit

Aufbewahrung bei 2-30 °C

Teststreifen nicht über das angegebene Verfallsdatum hinaus verwenden.

Probenentnahme und Vorbereitung

Zur Probenentnahme und -vorbereitung nur geeignete Röhrchen oder Sammelgefäße verwenden.

Kapillarblut; mit Standard-Probenentnahmeröhrchen entnommenes Vollblut; Serum; Heparinblut oder Heparinplasma; Urin.

Frisches Kapillar- oder Venenblut sofort nach der Entnahme einsetzen.

Als Antikoagulant nur Heparin (vorzugsweise Lithiumheparin) verwenden. Keine anderen Antikoagulanzien oder Zusatzstoffe verwenden.

In geschlossenen Gefäßen aufbewahrtes Heparinblut innerhalb von 8 Stunden verwenden. Nach dem Absetzen der zellulären Bestandteile kann das überstehende Plasma verwendet werden.

Bei Verwendung von heparinisierten Einmalgefäßen oder Kapillarpipetten sind die Haltbarkeitsdaten des Herstellers zu beachten.

Bei Serum und Heparinplasma, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen, beträgt die Haltbarkeit 7 Tage bei 4-25 °C oder 1 Monat bei 2-8 °C.²

Haltbarkeit in Urin: 10 Tage bei 4-8° C; 2 Tage bei 20-25° C

Probenvolumen: 30 μL

Gelieferte Materialien

1 Röhre mit 15 Teststreifen

Zusätzlich benötigte Materialien

- Reflotron Gerät
 - Reflotron Pipette
 - Reflotron Pipettenspitzen
 - Reflotron Kapillarröhrchen
- Reflotron Precinorm U und Reflotron Precipath U
- 0,9 % NaCl

Allgemein übliche Laborausüstung

Testdurchführung

Um eine einwandfreie Funktion des Tests sicherzustellen, sind die Anweisungen in diesem Dokument zu befolgen. Gerätespezifische Testanweisungen sind im entsprechenden Bedienungshandbuch zu finden.

- Einen Teststreifen aus der Röhre entnehmen. Röhre nach Entnahme eines Teststreifens sofort wieder fest verschließen.
- Schutzfolie vom Teststreifen entfernen, hierbei den Teststreifen nicht durchbiegen.
- Bei allen Reflotron Tests ist ein Probenvolumen von 30 μL erforderlich.
- Benötigtes Probenvolumen mit einer Pipette (z.B. Reflotron Pipette) aufnehmen und zentral auf den roten Teil der Auftragzone applizieren, ohne diese mit der Pipettenspitze zu berühren. Luftblasen vermeiden.
- Klappe bzw. Schieber öffnen. Reagenzträger innerhalb von 15 Sekunden nach dem Auftragen der Probe in die Führungsschiene stecken und waagrecht bis zum spürbaren Einrasten einschieben. Schieber bzw. Klappe schließen.
- Im Display erscheint die Abkürzung des Testparameters, wenn der Teststreifen korrekt eingelegt und der Magnetcode eingelesen wurde. Das Ergebnis wird je nach Einstellung des Gerätes angezeigt.

Kalibration

Die Festlegung der Funktionskurve von Reflotron Pancreatic Amylase zur Umrechnung von Reflexionswerten in Aktivitäten erfolgt chargenspezifisch unter Verwendung der Pankreas-α-Amylase liquid Methode von Roche Diagnostics.

Die Daten werden über das Magnetband automatisch an das Gerät übermittelt.

Qualitätskontrolle

Zur Qualitätskontrolle Reflotron Precinorm U und Reflotron Precipath U verwenden.

Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der definierten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall festlegen, dass Werte außerhalb der festgelegten Grenzen liegen.

Bei der Qualitätskontrolle die entsprechenden Gesetzesvorgaben und Richtlinien beachten.

Berechnung

Die gemessene Pankreasamylase-Aktivität wird mit Hilfe einer Funktion und Umrechnungsfaktoren, die dem Gerät durch das Magnetband auf der Reagenzträgerunterseite übermittelt werden, ausgewertet und automatisch berechnet. Je nach Einstellung des Gerätes wird die Enzymaktivität für 25 °C, 30 °C oder 37 °C in U/L bzw. μkat/L angezeigt.

Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen

Eine Beeinflussung der Testergebnisse durch folgende Substanzen in den geprüften Konzentrationsbereichen wurde nicht festgestellt (als Bewertung gilt: Wiederfindung ± 10 % vom Ausgangswert):³ Hämatokritwerte bis 55 %, Hämoglobin bis 0,37 mmol/L (6 g/L), Bilirubin bis 360 μmol/L (21 mg/dL), Triglyceride bis 25,9 mmol/L (2272 mg/dL), Cholesterin bis 14,8 mmol/L (572 mg/dL), andere endogene Substanzen sowie 26 weitere geprüfte Arzneiwirkstoffe.

Speichel und Schweiß enthalten α-Amylase. Auftragezone und Testfeld nicht berühren. Die Restaktivität der Speichelamylase beträgt ca. 7 %. In seltenen Fällen können sehr hohe Aktivitäten der Speichel-α-Amylase zu erhöhten Messwerten für die Pankreas-α-Amylase führen. Bei toxischen Paracetamolkonzentrationen wurden erniedrigte Pankreas-α-Amylase-Aktivitäten festgestellt. Ascorbinsäurekonzentrationen über 10 mg/dL führen zu einer erhöhten Wiederfindung.

Hohe Maltosekonzentrationen von > 300 mg/dL führen zu falsch niedrigen Testergebnissen. Da Peritonealdialysepatienten hohe Maltosekonzentrationen aufweisen, können die Reflotron Amylase oder Reflotron Pancreatic Amylase Tests bei ihnen nicht durchgeführt werden.

Für diagnostische Zwecke sind die Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Patientenvorgeschichte, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

Messbereich

Blut, Serum, Plasma: 14-850 U/L bzw. 0,23-14,17 μkat/L

Liegt die in Serum oder Plasma gemessene Pankreas-α-Amylase-Aktivität oberhalb des Messbereiches für den Reflotron Pancreatic Amylase Test (im Display erscheint zusätzlich * oder VERDUENNEN P-AM), so kann die Probe mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1 + 3 verdünnt werden. Das Ergebnis mit dem Faktor 4 multiplizieren.

Urin: 57,1-2380 U/L bzw. 0,95-39,66 μkat/L Urinproben 1 + 3 mit destilliertem Wasser verdünnen. Das Ergebnis mit dem Faktor 4 multiplizieren.

Referenzwerte

Erwachsene: Blut, Serum, Plasma:⁴ < 53 U/L bzw. < 0,89 μkat/L (37 °C, 30 °C, 25 °C)

Spontanurin:⁴ < 325 U/L bzw. < 5,42 μkat/L (37 °C, 30 °C, 25 °C)

Aus technischen Gründe sind die Werte bei 37 °C, 30 °C und 25 °C identisch.

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der zu erwartenden Werte für die eigene Patientengruppe überprüfen und gegebenenfalls eigene Bereiche ermitteln.

Spezifische Leistungsdaten des Tests

Die Daten für den Reflotron Pancreatic Amylase Test wurden in Erprobungsuntersuchungen ermittelt. Die Mehrheit der Testergebnisse lag innerhalb der angegebenen Bereiche.

Präzision

Wiederholpräzision (Präzision in der Serie):

VK (Variationskoeffizient) im niedrigen Bereich 2,6 %, im pathologischen Bereich 2,3 %; Probenmaterial: Heparinblut.

Zwischenpräzision (Tag/Tag-Präzision):

VK im Normalbereich 4,0 %, im pathologischen Bereich 4,5 %; Probenmaterial: Kontrollseren.

Methodenvergleich

Ein Vergleich des Reflotron Pancreatic Amylase Tests (y) mit dem Pancreatic α-Amylase PNP Test (x) in Serum, Heparinblut oder Heparinplasma ergab folgende Korrelationen: y = 0,97x − 3,3; n = 50; r = 0,996

Weitergehende Informationen siehe Bedienungshandbuch des jeweiligen Gerätes sowie die Methodenblätter aller erforderlichen Komponenten.

Um die Grenze zwischen dem ganzzahligen Teil und dem gebrochenen Teil einer Zahl anzugeben, wird in diesem Methodenblatt immer ein Punkt als Dezimaltrennzeichen verwendet. Tausendertrennzeichen werden nicht verwendet.

Signifikante Ergänzungen oder Änderungen sind durch eine Markierung am Rand gekennzeichnet.

--

Français

Domaine d'utilisation

Test in vitro pour la détermination quantitative de l'activité spécifique de l'α-amylase pancréatique (EC 3.2.1.1) dans le sang, le sérum, le plasma ou l'urine sur les systèmes Reflotron.

Caractéristiques

