

Bioclin

AMILASE

K003

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Método para a determinação da atividade da Amilase. Teste colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia : Caraway Modificado - Cinética de tempo fixo.

A amostra é incubada com um substrato de amido. Pela adição do iodo, o amido ainda não hidrolisado adquire coloração azul que diminui proporcionalmente à atividade enzimática, sendo comparado com um controle.

REAGENTES

Reagente Nº 1 - Substrato - conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Amido 0,4 g/L, Tampão fosfato 100 mmol/L pH 7,0, estabilizador e conservador. O Reagente em baixas temperaturas pode cristalizar. Neste caso, colocar o Reagente (em sua embalagem original e bem vedado) em banho-maria 37 ° C agitando até completa dissolução dos cristais.
Reagente Nº 2 - Reagente de Cor - Solução estoque de Iodo conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Iodo 50 mmol/L e estabilizador.

APRESENTAÇÃO

Reagentes	Volume
Reagente Nº 1.....	50 mL
Reagente Nº 2.....	5 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Espectrofotômetro ou colorímetro, banho-maria 37 °C, cronômetro, pipetas, tubos de ensaio. Encontram-se no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8 °C. O transporte em temperaturas entre 15 e 30 °C não deverá exceder a 72 (setenta e duas) horas. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade.

CUIDADOS ESPECIAIS

- 1 - Somente para uso diagnóstico *in vitro*;
- 2 - Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos;
- 3 - A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes;
- 4 - Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados;
- 5 - O nível de água no banho-maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio;
- 6 - Como o Reagente Nº 1 é facilmente contaminado por saliva recomendamos a utilização de máscaras, pêsas e pipetas automáticas;
- 7 - É importante para o bom desempenho do teste, um rigoroso controle de tempo e temperatura;
- 8 - O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se os critérios de biossegurança de acordo com a legislação vigente.

AMOSTRAS

Soro obtido livre de hemólise, plasma colhido com heparina. Outros anticoagulantes (EDTA, citrato, oxalato) inibem a atividade da Amilase. Urina - coletar em intervalo de 2 a 24 horas.

A Amilase é estável no plasma, soro ou urina por 24 horas entre 15 e 30 °C e 2 meses entre 2 e 8 °C.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

PREPARO DO REAGENTE DE TRABALHO

Transferir o conteúdo da ampola (Reagente Nº 2) para o frasco vazio que acompanha o Kit. Em seguida, adicionar 45 mL de água destilada ou deionizada e homogeneizar. Manter o frasco bem vedado . Estável por 06 meses entre 2 e 8 °C.

TÉCNICA

Marcar 2 tubos de ensaio : C (Controle), A (Amostra) e proceder como a seguir :

	Controle	Amostra
Reagente Nº 1	0,5 mL	0,5 mL

Colocar em banho-maria à 37 °C por 2 minutos.

Amostra	—	10 µL
---------	---	-------

Homogeneizar e incubar à 37 °C por exatamente 7 minutos e trinta segundos (cronometrados).

Reagente de Trabalho	0,5 mL	0,5 mL
Água dest. ou deionizada	4,0 mL	4,0 mL

Homogeneizar bem e determinar as absorvâncias do Controle e da Amostra em 660 nm (620 a 700 nm), zerando o aparelho com água destilada ou deionizada. A cor é estável por 30 minutos.

Para dosagem na urina, medir o volume urinário coletado em um intervalo de 2 a 24 horas. Ajustar o pH entre 7,0 e 7,4 com Carbonato de sódio (sólido) para urina ácida e com fosfato biácido de potássio (KH₂PO₄) para urina alcalina. Proceder do mesmo modo descrito para o soro.

DESCRIÇÃO DOS CÁLCULOS

Ac = Absorvância do Controle
Aa = Absorvância da Amostra

$$\text{Unidades de Amilase/dL} = \frac{Ac - Aa}{Ac} \times 800$$

Uma unidade de enzima é a quantidade que hidrolisa totalmente 10 mg de amido em 30 minutos à 37 °C.

Cálculo para dosagem na urina:

$$\text{Unid. de Amilase/h} = \frac{Ac - Aa}{Ac} \times \frac{\text{Volume urinário (mL)}}{\text{Tempo de coleta (em horas)}} \times 8$$

Exemplo:

Absorvância do Controle soro= 0,368
Absorvância da Amostra soro= 0,320
Absorvância do Controle Urina= 0,380
Absorvância da Amostra Urina= 0,300
Tempo de coleta : 12 horas
Volume: 900 mL

$$\frac{0,368 - 0,320}{0,368} \times 800 = 104 \text{ U de Amilase/dL}$$

$$\frac{0,380 - 0,300}{0,380} \times \frac{900 \times 8}{12} = 126 \text{ U de Amilase/hora}$$

Quando o valor $\frac{Ac - Aa}{Ac}$ for maior do que 0,5, diluir a urina

com solução de cloreto de sódio 0,85 % , repetir o ensaio e multiplicar o resultado pelo fator de diluição.

Os resultados serão expressos em U/dL.

A reação é linear até 400 Unidades/dL. Para valores maiores, diluir a amostra com Cloreto de sódio 0,85% e proceder a nova determinação. Multiplicar o resultado pelo fator de diluição.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

Como em toda reação enzimática, é de grande importância o controle do tempo e da temperatura de incubação. Uma diferença de 1 minuto no tempo de incubação acarreta um erro de 13% nos resultados.

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens. Deve ser de 5% o erro máximo permitido em relação aos valores pré-estabelecidos para os controles.

VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores de referência em Unidades/dL, para o presente método, foram obtidos através da determinação de Amilase em populações sadias do sexo masculino e feminino.

Soro: 60 a 160 Unidades/ dL
Urina: 50 a 140 Unidades/ hora

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

DESEMPENHO DO PRODUTO

Exatidão

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS E ESPECIFICIDADE METODOLÓGICA

O kit de Amilase foi comparado com outros métodos para dosagem de Amilase. De acordo com os resultados de 05 amostras clínicas, os métodos mostraram uma excelente correlação. O coeficiente de correlação para Amilase foi de 0,999 e a equação da reta de regressão foi de $Y = 0,993x + 1,126$.

Com estes resultados pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

Precisão

REPETITIVIDADE

A repetitividade refere-se a 20 determinações sucessivas de Amilase, utilizando-se 3 amostras com concentrações diferentes, encontrando-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (UI/dL)	57,95	71,90	121,10
Desvio Padrão (UI/dL)	0,76	0,79	0,91
Coefficiente de Variação (%)	1,31	1,10	0,75

REPRODUTIVIDADE

A reprodutividade refere-se a 20 determinações de Amilase, em 3 dias diferentes, com 3 amostras de concentrações diferentes encontrando-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (UI/dL)	58,08	71,90	121,02
Desvio Padrão (UI/dL)	0,13	0,05	0,08
Coefficiente de Variação (%)	0,22	0,07	0,06

Sensibilidade

A sensibilidade foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra de concentração 0 (zero) de Amilase. A média da concentração da Amilase foi 0,0039 UI/dL com Desvio Padrão de 0,0001 UI/dL. A sensibilidade, que indica o Limite de Detecção do Método, corresponde a média mais 3 vezes o Desvio Padrão e é igual a 0,0042 UI/dL.

INTERFERENTES

Amostras com hemólise produzem resultados falsamente diminuídos. Anticoagulantes como EDTA, Citrato e Oxalato inibem a atividade da Amilase. Valores de bilirrubina até 20 mg/dL e hiperlipemia (triglicérides até 1500 mg/dL) não interferem.

Significado Diagnóstico

A Amilase, predominantemente de origem pancreática e salivar, está normalmente presente no sangue e na urina em pequenas quantidades. Eleva-se rapidamente no plasma após o início dos sintomas de pancreatite aguda, onde paralelamente observa-se um aumento da Amilase urinária.

Valores aumentados são, também, observados no infarto mesentérico, úlcera gástrica perfurada, carcinoma de cabeça do pâncreas, caxumba, insuficiência renal, acidose diabética. Níveis plasmáticos diminuídos são observados na hepatite, cirrose hepática, toxemia de gravidez, eclampsia, carcinoma pancreático. Algumas drogas podem interferir nos resultados laboratoriais elevando os níveis séricos da Amilase (morfina, meperidina, codeína, diuréticos tiazídicos) ou diminuindo, como nos casos de envenenamento por barbitúricos.

NÚMERO DE TESTES

100 Testes/ 10 µL de amostra/1 mL de Reagente
200 Testes/ 5 µL de amostra/ 500 µL de Reagente

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - CARAWAY, W. T.: Amer J. Clin. Pathol, 1959, 32, 97.
- 2 - TONKS, D. B.: Clin. Chem., 1983, 9:217.
- 3 - HENRY, R. J.: Chemistry Technics 4º Ed. New York - Haper e Row, 1964, 498.
- 4 - HENRY, R. J. and CHIAMORI, N.: Clin. Chem., 1960, 6, 434.
- 5 - CARL, A. B. and EDWARD, R. A.: Tietz Textbook of Clinical Chem 2nd ed., 1994, 852-863.

GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes **Bioclin** são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.

DADOS DO FABRICANTE

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: (31) 3439.5454 - Fax (31) 3439.5455
e-mail bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente Tel.: 0800 0315454.
e-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro do kit Amilase na ANVISA: 10269360085.