

## AMILASE CINÉTICA K046 INSTRUÇÕES DE USO



### FINALIDADE

Método para a determinação da Alfa-Amilase. Teste cinético, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

### PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Cinética.

A alfa-amilase catalisa a hidrólise do 2-cloro-4-nitrofenil-maltotriósídeo (CNP-G3) liberando 2-cloro-4-nitrofenol (CNP), 2-cloro-4-nitrofenil-maltosídeo (CNP-G2), maltotriose (G3) e Glicose (G). A concentração catalítica é determinada a partir da velocidade de formação do 2-cloro-4-nitrofenol, medido a 405 nm.

CNPG3 —Alfa-amilase—> CNP + CNPG2 + G3 + G

### REAGENTES

**Número 1 - Substrato Tamponado** - conservar entre 2 e 8°C. Contém: Tampão MES 200 mmol/L pH 6,0; 2-cloro-4-nitrofenil-maltotriósídeo (G3CNP) 5 mmol/L, Cloreto de Sódio 400 mmol/L, Azida Sódica 15 mmol/L.

### APRESENTAÇÃO

Apresentação	Reagente Nº 1
K 046 - 1	3 x 20 mL
K 046 - 2	5 x 20 mL
K 046 - 3	5 x 40 mL

### EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Espectrofotômetro termostaticado, pipetas, cronômetro, 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. Não congelar. 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 - Hemólise visível pode ser causa de ligeiras variações nos resultados;
- 6 - O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se os critérios de biossegurança de acordo com a legislação vigente;
- 7 - O Reagente Nº 1 é facilmente contaminado por saliva. Portanto, recomendamos a utilização de máscaras, peras e pipetas automáticas durante o manuseio deste produto.

### 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 até 7 dias entre 20 e 25 °C e 2 meses entre 2 e 8 °C.

### INTERFERENTES

A saliva contém Amilase. Portanto, não deve-se pipetar com a boca e evitar o contato do reagente com a pele. A lipemia (Triglicérides até 1000 mg/dL) e a Bilirubina (até 20 mg/dL) NÃO interferem com a metodologia. Hemoglobina a 2,5 g/L interfere nos resultados. 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.

### DESCRIÇÃO DO PROCESSO

O reagente é pronto para uso.

### TÉCNICA

Condições de reação: é condição indispensável o uso de cubeta termostaticada a 37 °C, caminho óptico de 1cm e leitura em 405 nm.

### Para Soro ou Plasma

Adicionar 20 µL de amostra a 1,0 mL do Substrato Tamponado, misturar e transferir para cubeta termostaticada a 37°C. Fazer a leitura inicial, disparando simultaneamente o cronômetro. Repetir as leituras após 1, 2 e 3 minutos. Calcular a média das diferenças de absorbância por minuto ( $\Delta A/\text{min.}$ ) e utilizar para cálculo do resultado.

### Para Urina

Homogeneizar, medir e anotar o volume urinário em mL e o tempo de coleta da amostra.

Proceder a dosagem como descrito para o soro.

### DESCRIÇÃO DOS CÁLCULOS

#### Soro ou Plasma

Amilase (U/L) =  $\Delta A/\text{min.} \times 3954$ . Os resultados serão expressos em U/L.

#### Urina

$$\text{Amilase Urinária (U/h)} = \frac{(\text{Amilase U/L} \times V)}{(H \times 1000)}$$

V= volumen urinário em mL

H = número de horas da coleta urinária

#### Exemplo

Amilase urinária (valor encontrado na dosagem) = 90 U/L

V = volume urinário em mL = 200 mL

H = n° de horas da coleta urinária = 2

$$\text{Amilase Urinária (U/h)} = (90 \times 200) / (2 \times 1000) = 9 \text{ U/h}$$

Para uma variação média na absorbância a 405 nm maior que 0,25, repetir a determinação, diluindo a amostra NaCl 0,85 %. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição. Para conversão dos dados no Sistema Internacional (SI), multiplicar o resultado: U/L X 0,01667 =  $\mu\text{kat/L}$ .

### LIMITAÇÕES DO PROCESSO

As especificações abaixo referem-se a equipamentos semi-automáticos: O método cinético baseia-se na absorvidade molar, por essa razão, as leituras devem ser realizadas em um espectrofotômetro que cumpra as seguintes condições:

Comprimento de onda 405 nm

Semi trajetória da banda de passagem 10 nm

Luz espúria menor que 0,5%

Cubeta de 1cm termostaticada

### 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 pre-estabelecidos para os controles.

### VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores de referência em U/L para o presente método foram obtidos através da determinação da Alfa-amilase em populações saudias do sexo masculino e feminino em várias faixas etárias.

Soro: < 90 U/L

Urina: < 450 U/L

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 Amilase Cinética foi comparado com outro método para dosagem de amilase, comercialmente disponível. Foram realizadas 07 análises e os resultados foram avaliados. A equação linear obtida foi  $y = 1,005x - 0,7105$ , com coeficiente de correlação linear igual a 0,9985. Com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

#### Precisão

#### REPETIBILIDADE

Foram realizadas 20 dosagens sucessivas com três amostras com concentrações diferentes, encontrando-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração média (U/L)	43,65	103,65	233,90
Desvio Padrão (U/L)	1,39	1,46	4,56
Coefficiente de variação (%)	3,18	1,41	1,95

### REPRODUTIBILIDADE

Foram realizadas 20 dosagens, durante três dias consecutivos, com três amostras de concentrações diferentes, encontrando-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração média (U/L)	43,57	104,17	234,18
Desvio Padrão (U/L)	0,10	0,45	0,45
Coefficiente de variação (%)	0,24	0,43	0,19

### Sensibilidade

A sensibilidade foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra isenta da presença de uréia.

A média encontrada foi 3,69 U/L, com desvio padrão de 0,10 U/L. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde a 3 vezes o desvio padrão, sendo igual a 3,994 U/L.

### Linearidade

A reação é linear até a concentração de 2000 U/L.

### 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 observados também no infarto mesentérico, úlcera gástrica perforada, carcinoma de cabeça do pâncreas, caxumba, insuficiência renal, acidose diabética.

Níveis plasmáticos diminuídos são observados na hepatite, cirrose hepática, toxemia de gravidez, eclâmpse, carcinoma pancreático.

### NÚMERO DE TESTES

60 Testes /20 µL de soro (ou 10 µL de urina) /1,0 mL de Reag. de Trabalho

120 Testes /10 µL de soro (ou 5 µL de urina)/0,5 mL de Reag. de Trabalho

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Winn-Deen ES, David H, Sigler G and Chavez R. Development of a direct assay for a-amylase. Clin Chem 1988; 34: 2005-2008.
2. Balsells D, Gella FJ, Gubern G, Canalias F. Reference values for a-amylase in human serum and urine using 2-chloro-4-nitrophenyl-a-D-maltotriósídeo as substrate. Clin Chim Acta 1998; 274: 213-217.
3. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994.

### 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 031 5454.

e-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro do kit de Amilase Cinética na ANVISA: 10269360079.

Revisão: Agosto/11