



ALFA-AMILASE

INSTRUÇÕES DE USO

MÉTODO:

Gal-G2- α -CNP.

FINALIDADE:

Kit para a determinação da α -amilase em amostras de soro, plasma heparinizado e urina. Somente para diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO:

O Gal-G2- α -CNP [α -(2-Cloro-4-nitrofenil)- β -1,4-galactopiranosilmaltosídeo] que é hidrolisado pela α -amilase da amostra é o substrato responsável pela reação e formação do cromógeno, na reação:



A liberação do 2-cloro-4-nitrofenol (CNP) do substrato, o que causa o aumento da absorbância resultante por minuto, está diretamente relacionada com a atividade da α -amilase na amostra.

SIGNIFICADO CLÍNICO:

A α -amilase é uma hidrolase que tem a função de degradar carboidratos. Ela é predominantemente de origem glandular pancreática e salivar. As dosagens da amilase sérica e urinária, são amplamente utilizadas no diagnóstico de doenças pancreáticas, bem como de sua função. Níveis elevados são encontrados na pancreatite, lesões das glândulas salivares (caxumba), úlceras pépticas perfuradas, apendicite, gravidez ectópica rota, aneurisma dissecante aórtico e doenças do trato biliar.

Em pacientes com pancreatite aguda, os níveis séricos de α -amilase elevam-se em poucas horas do início do episódio, ocorrendo seu pico com 24 horas. Os níveis séricos da enzima retornam a valores basais com 2 a 3 dias do início do episódio.

Em pacientes com insuficiência renal, a α -amilase apresenta elevação proporcional ao comprometimento renal. A α -amilase pode se ligar a outras proteínas impedindo seu clearance renal, o que causa um quadro de amilase elevada e urinária dentro dos valores de referência.

Para se diferenciar pancreatite aguda de uma macroamilasemia, utiliza-se clearance de amilase e creatina:

$$\text{CAM/CCREA} = ((\text{AMI})\text{Urina}/(\text{AMI})\text{Soro}) \times ((\text{CREA})\text{Soro}/(\text{CREA})\text{Urina})$$

Valor de referência: 1 a 4 %

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO DO REAGENTE:

Conservar entre 2 e 8°C

R1 - Monoreagente: Tampão MES 50 mmol/L; Cloreto de Sódio 70 mmol/L; Cloreto de Cálcio 6 mmol/L; GalG2-CNP 2,22 mmol/L; Azida Sódica 0,095% p/v.

ESTABILIDADE:

O reagente está pronto para uso, não é necessário prepará-lo. O reagente é estável até a data de validade impressa no rótulo, quando armazenado a temperatura de 2 a 8 °C, bem vedado e se for evitada a contaminação durante o uso. Depois de aberto o frasco, o reagente é estável por 12 semanas quando armazenado entre 2 a 8 °C, e por 4 semanas entre 15 e 25 °C.

A contaminação do reagente pode ser causada por secreções como suor e saliva, devido ao elevado conteúdo de α -amilase presente nas secreções. Devem ser evitadas conversas nas proximidades do frasco destampado, pois o reagente pode ser contaminado irreversivelmente. Nunca pipetar com a boca. O aparecimento de coloração amarelada no reagente é sinal de contaminação pela α -amilase. Elevações inesperadas da absorbância do reagente indicam a contaminação por saliva ou suor.

TRANSPORTE:

O kit não é afetado pelo transporte desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 07 dias e em uma temperatura de até 37 °C.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado entre 2 e 8 °C e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS:

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação do reagente. O reagente possui azida sódica. Não ingerir ou aspirar. Evitar contato com a pele e mucosa;
- Recomendamos a aplicação das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos para a execução do teste;
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes;
- Não sobre dentro do frasco ou nas pipetas utilizadas para aspirar o reagente. A α -amilase da saliva pode contaminar o reagente irreversivelmente.
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental;
- Não misturar reagentes de lotes diferentes;
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, evitando contaminação cruzada.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Espectrofotômetro UV/VIS;
- Tubos e pipetas;
- Banho-maria ou termostatizador na temperatura constante de 37 °C;
- Cronômetro.

AMOSTRAS BIOLÓGICAS

• SORO e PLASMA (heparinizado)

A α -amilase é estável por 07 dias se a amostra for mantida em temperatura de 2 a 8 °C.

• URINA

Utilizar amostra de 24 horas (colhida ao longo de 24 horas). Não necessita de conservantes. Retirar alíquota, centrifugar por 10 minutos a 3000 rpm e utilizar o sobrenadante para a execução do ensaio.

INTERFERÊNCIAS

A hemoglobina até 500mg/dL, EDTA até 500mg/dL, Fluoreto até 500mg/dL, Citrato até 500mg/dL, Glicose até 5g/dL e Ácido Ascórbico até 550mg/dL não produzem interferências significativas. Amostras com valores acima desses citados produzem resultados falsamente diminuídos.

PROCEDIMENTO DO TESTE

1. Observações

- O nível de água no banho-maria deve ser superior ao dos reagentes nos tubos;
- A observação minuciosa da limpeza e secagem da vidraria, da estabilidade dos reagentes, da pipetagem, da temperatura e do tempo de reação é de extrema importância para se obter resultados precisos e exatos;
- A água utilizada nos laboratórios clínicos deve ser purificada utilizando-se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, aminas e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

2. Termostatar o reagente

Ajustar a temperatura do banho-maria ou termostatizador para 25 °C ou 37 °C. A temperatura deve permanecer constante durante a realização do teste. É aceitável uma variação de até 0,5 °C.

3. Leitura do teste

Comprimento de onda: Hg 405nm (400 - 410);

Cubeta: 1cm;

Temperatura: 25 °C ou 37 °C;

Medição: Zerar a absorbância com água deionizada.

4. Procedimento

Preparo do reagente: O reagente encontra-se pronto para uso.

Pipetar na cubeta	25 °C	37 °C
Amostra	20 μ L	10 μ L
Reagente	1000 μ L	1000 μ L

Procedimento: Pipetar o reagente em um tubo de ensaio, homogeneizar e imediatamente incubar a 37 °C. Acionar o cronômetro. Após 1 minuto ler a absorbância inicial (A₀). Efetuar novas leituras a cada 60 segundos, por 03 minutos (A₁, A₂ e A₃).

5. Cálculos:

As leituras devem ser utilizadas para se determinar a mudança de suas médias por minuto (ΔA /min). O valor de ΔA /min é então utilizado para o cálculo da atividade da α -amilase na amostra.

Cálculo da média da diferença das extinções por minuto

$$(\Delta A/\text{min}) = ((A_1 - A_0) + (A_2 - A_1) + (A_3 - A_2))/3$$

Fatores para cálculo da atividade da α -amilase aplicado ao ΔA /min:

- U/L (25 °C) = ΔA /min x 9864;
- U/L (37 °C) = ΔA /min x 24820;
- IFCC (37 °C) = ΔA /min x 10183;

5.1. Exemplo

Temperatura a 25 °C

(A₀=1,203) (A₁=1,260) (A₂=1,302) (A₃=1,332)

$$(\Delta A/\text{min}) = ((1,260 - 1,203) + (1,302 - 1,260) + (1,332 - 1,302))/3$$

$$(\Delta A/\text{min}) = 0,043$$

$$\text{U/L} = 0,043 \times 9864 = 424,15 \text{ U/L}$$

5.2. Conversão para o sistema internacional

O sistema internacional utiliza a unidade Kat/L. Para converter de U/L para Kat/L, basta multiplicar o resultado em U/L por 16,67 x 10³ μ Kat/L.

- 1 U/L = 16,67 x 10³ μ Kat/L
- 1 μ Kat/L = 60 U/L

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

1. Linearidade da reação:

No caso de a absorvância por minuto ($\Delta A/\text{min}$) exceder 0,300, a amostra deve ser diluída com solução de NaCl (0,9%). Deve-se utilizar 0,5mL da solução diluente e 0,1mL da amostra. Repetir o teste com a amostra diluída e multiplicar pelo fator de diluição.

2. Valores de referência

AMOSTRA/TEMPERATURA	25 °C (U/L)	37 °C (U/L)	IFCC a 37 °C (U/L)
Soro, plasma	Até 130	Até 220	25-125
Urina	Até 600	Até 1000	460
Urina de 24 horas	Até 450 U/24h	Até 900 U/24h	410 U/24h

Estes valores devem ser utilizados como uma orientação. É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

3. Sensibilidade

11,37 U/L

4. Comparação de métodos

O kit para a dosagem da α -amilase foi comparado com outros kits comercialmente disponíveis. Amostras diversas foram utilizadas na comparação dos testes, dentre essas, soros controle e amostras de pacientes. Os resultados obtidos mostraram boa concordância.

5. Repetibilidade e reprodutibilidade

Foram utilizados soros controle comercialmente disponíveis para a avaliação da repetibilidade e reprodutibilidade do kit. Os soros foram reconstituídos e/ou preparados seguindo as recomendações do fabricante. Trinta determinações dos soros controle foram realizadas com o kit de α -Amilase da VIDA Biotecnologia para a determinação da repetibilidade e 10 determinações por soro controle para a reprodutibilidade. As médias das determinações foram calculadas e comparadas com os valores alvo.

5.1 Repetibilidade

Soro Controle	N	Média dos valores obtidos	DP	CV
SC1	30	365,4	3,63	0,99
SC2	30	195,7	1,78	0,91
SC3	30	1136,9	13,89	1,22

5.2 Reprodutibilidade

Soro Controle	N	Média dos valores obtidos	DP	CV
SC1	10	363,2	4,35	1,20
SC2	10	196,3	2,76	1,41
SC3	10	1142,6	14,37	1,25

6. Controle de qualidade

Foram utilizados soros controle comercialmente disponíveis para a avaliação do kit. Os soros foram reconstituídos e/ou preparados seguindo as recomendações do fabricante. Dez determinações dos soros controle foram realizadas com o kit de α -Amilase da VIDA Biotecnologia. As médias das determinações foram calculadas e comparadas com os valores alvo.

Soro Controle	Valor alvo	Média dos valores obtidos	% de Recuperação
SC1	360	362	100,56
SC2	190	193	101,58
SC3	1215	1164	95,80

RISCOS RESIDUAIS IDENTIFICADOS

As medidas de redução dos riscos foram implementadas e o produto não apresenta riscos maiores que os benefícios obtidos com o seu uso; e se usado por profissionais qualificados e treinados, cientes das precauções descritas nos produtos, desempenhará suas funções com qualidade, segurança e eficácia.

APRESENTAÇÃO DO KIT

CÓDIGO	REAGENTE	VOLUME	NÚMERO DE DETERMINAÇÕES
100/130-060	R1(MONOREAGENTE)	4 x 15 mL	60
100/130-250	R1 (MONOREAGENTE)	5 x 50 mL	250

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1-Y. Morishita; Y. Iinuma; N. Nakashima; K. Majima; K. Mizuguchi; Y. Kawamura, Total and Pancreatic Amylase Measured with 2-Chloro-4-nitrophenyl-4-O- α -D-galactopyranosylmaltoside, Toyobo Biochem (Enzymes and Protein Markers) N° 3026. Clinical Chemistry 46:7 2000.
- 2-Henry, T.J.; Clin.Chem. – Principles and Procedures 4ª Ed. Little, Brown and Company.
- 3-Mota VT. Bioquímica Clínica: Métodos e Interpretações. Porto Alegre, Ed. Médica Missau. 1999.
- 4- Toyobo Enzymes 2002 – 2003, Toyobo Biochem (Carbohydrate Research 303) N° 3026 – Elsevier Science ltd 1997.

INFORMAÇÕES AO CONSUMIDOR:

A VIDA Biotecnologia garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nessa instrução sejam seguidos corretamente.

Nº DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO E DATA DE VALIDADE, VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

PRODUZIDO E DISTRIBUÍDO POR: VIDA Biotecnologia LTDA

CNPJ: 11.308.834/0001-85

Avenida José Cândido da Silveira 2100 – Horto Florestal – CEP 31035-536; Belo Horizonte. Minas Gerais – www.vidabiotecnologia.com.br

Departamento de Serviços Associados | (31)34663351;

dsa@vidabiotecnologia.com.br

Responsável Técnico: Renato Silva CRBIO4 – 57360/04-D

Reg. M.S.: 80785070001

Rev.: 01/2022

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NO RÓTULO DO PRODUTO	
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa)
	Material Calibrador
	Limite de temperatura (conservar a)
	Consultar instruções de uso
	Número de catálogo
	Produto para Diagnóstico In Vitro
	Corrosivo
	Risco Biológico
	Tóxico
	Reagente
	Data de Fabricação (mm/aaaa)
	Número de Lote