

# AMILASE +

## APRESENTAÇÃO

Artigo nº	Apresentação
2080075VET	R1: 3 x 20 mL + R2: 1 x 15 mL

## FINALIDADE

Reagente de diagnóstico *in vitro* para determinação quantitativa de Alfa Amilase em soro ou plasma em sistemas fotométricos.

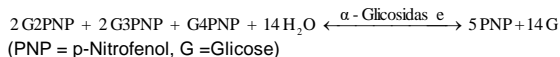
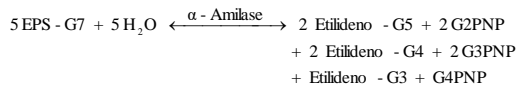
## SUMÁRIO<sup>1,2</sup>

As alfa-amilases são enzimas hidrolíticas que transformam o amido em maltose. No corpo humano as alfa-amilases são formadas em diferentes órgãos: a amilase pancreática é produzida pelo pâncreas e liberada no trato intestinal; a amilase salivar é sintetizada nas glândulas salivares e secretada na saliva. A amilase presente no sangue é eliminada através do rim e excretada na urina. Portanto, a elevação da atividade da amilase sérica é refletida em um aumento da atividade da amilase urinária. A dosagem da alfa-amilase no soro e na urina é utilizada principalmente para o diagnóstico de desordens pancreáticas bem como para detectar o desenvolvimento de complicações. Na pancreatite aguda a atividade da amilase sanguínea aumenta dentro de poucas horas após o início da dor abdominal, alcança picos após aproximadamente 12 horas e retorna aos valores de referência no máximo após 5 dias. A especificidade da alfa-amilase para as desordens pancreáticas não é muito alta, assim como níveis elevados de amilase são dosados também em várias doenças não pancreáticas como, por exemplo, parotidites e insuficiência renal. Portanto, para confirmação de pancreatite aguda deve ser dosada adicionalmente a lipase.

## MÉTODO

Teste fotométrico enzimático, no qual o substrato 4,6-etilideno-(G7)-p-nitrofenil-(G1)- $\alpha$ -D-maltoheptaosídeo (EPS-G7) é clivado pela alfa-amilase em vários fragmentos. Em uma segunda etapa esses fragmentos são hidrolisados pela  $\alpha$ -glicosidase produzindo glicose e p-nitrofenol. O aumento na absorbância representa a atividade da amilase total (pancreática e salivar) na amostra<sup>3,4</sup>.

## PRINCÍPIO



## REAGENTES

### Componentes e Concentrações

<b>R1</b>	Tampão Good's	pH 7,15	0,1 mol/L
	NaCl		62,5 mmol/L
	MgCl <sub>2</sub>		12,5 mmol/L
	$\alpha$ -Glicosidase		≥ 2 KU/L
<b>R2</b>	Tampão Good's	pH 7,15	0,1 mol/L
	EPS-G7 (4,6-etilideno-(G7)-p-Nitrofenil-(G1)- $\alpha$ -D-maltoheptaosídeo)		8,5 mmol/L

## ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes são estáveis até o prazo da data de validade, se armazenados a temperatura de 2 a 8 °C, protegidos da luz e a contaminação for evitada. Não congelar os reagentes!

## CUIDADOS E PRECAUÇÕES

- Saliva e pele contêm alfa amilase, portanto nunca pipetar reagentes com a boca e evitar contato dos reagentes com a pele.
- Os reagentes contêm azida sódica (0,95 g/L) como conservante. Não ingerir! Evite contato com a pele e mucosas.
- O reagente 1 contém material de origem animal. Manusear o produto como potencialmente infeccioso, de acordo com as precauções universais e boas práticas de laboratório clínico.
- Em casos muito raros, amostras de pacientes com gamopatia podem apresentar resultados alterados<sup>5</sup>.

- Por favor, consulte a ficha de segurança e tome as precauções necessárias para o manuseio de reagentes de laboratório. Para um diagnóstico final, os resultados devem sempre ser correlacionados com o histórico médico do paciente, exames clínicos e outros resultados.
- Apenas para uso profissional.

## GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS

Seguir as disposições da resolução em vigor que dispõe sobre o Regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, bem como outras práticas de biossegurança equivalentes.

## PREPARO DOS REAGENTES

### Partida com Substrato

Os reagentes estão prontos para o uso.

### Partida com Amostra

Misturar 4 partes de R1 com 1 parte de R2  
(Ex: 20 mL R1 + 5 mL R2) = mono reagente

Estabilidade: 4 semanas a 15 - 25 °C  
6 meses a 2 - 8 °C

O mono reagente deve ser protegido da luz!

## MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

- Solução NaCl 9 g/L
- Equipamento geral de laboratório
- Espectrofotômetro
- Centrífuga
- Banho-maria
- Cronômetro
- Vidraria
- Pipetas manuais ou automáticas
- Água destilada ou deionizada

## AMOSTRA

Soro ou plasma heparinizado

Estabilidade:
2 dias em 4 - 8 °C
Descarte espécimes contaminados.

## PROCEDIMENTOS PARA O TESTE

Comprimento de onda	Hg 405 nm
Caminho óptico	1 cm
Temperatura	37 °C
Medição	Contra o branco de reagente.

### Partida com Substrato

	Soro ou plasma	
	Branco	Amostra
<b>Amostra ou calibrador</b>	-	20 µL
<b>Água destilada</b>	20 µL	-
<b>Reagente 1</b>	1000 µL	1000 µL
Misturar, incubar por aproximadamente 1 min, então adicionar:		
<b>Reagente 2</b>	250 µL	250 µL
Misturar, ler a absorbância (A1) após 2 min e disparar o cronômetro. Ler a absorbância novamente após 1, 2 e 3 min.		

### Partida com Amostra

	Soro ou plasma	
	Branco	Amostra
<b>Amostra ou calibrador</b>	-	20 µL
<b>Água destilada</b>	20 µL	-
<b>Monoreagente</b>	1000 µL	1000 µL
Misturar, ler a absorbância (A1) após 2 min e disparar o cronômetro. Ler a absorbância (A2) novamente após 1, 2 e 3 min.		

## CÁLCULO

### Com fator

A partir das leituras de absorbância, calcular  $\Delta A/\text{min}$  e multiplicar pelo fator correspondente da tabela abaixo:

$$\Delta A/\text{min} \times \text{Fator} = \text{Atividade da Amilase [U/L]}$$

<b>Soro ou plasma</b>	<b>Partida com substrato</b>	<b>Partida com amostra</b>
<b>Com calibrador</b>	5670	4554

$$\text{Alfa-Amilase [U/L]} = \frac{\Delta A / \text{min}_{\text{Amostra}}}{\Delta A / \text{min}_{\text{cal}}} \times \text{Conc. Cal. [U/L]}$$

**CALIBRADORES E CONTROLES**

Para a calibração em sistemas fotométricos, o soro calibrador Biofocovet é recomendado. Para controle de qualidade interno o soro controle N Biofocovet e o soro controle P Biofocovet devem ser medidos. Cada laboratório deve estabelecer ações corretivas em caso de desvios em recuperação de controles.

**GARANTIA**

Estas instruções de uso devem ser lidas atentamente antes da utilização do produto e as informações nela contidas devem ser rigorosamente cumpridas. A confiabilidade dos resultados do ensaio não poderá ser garantida em caso de desvio às instruções.

**CARACTERÍSTICAS / DESEMPENHO**
**Características de desempenho**

As características de desempenho foram avaliadas com amostras humanas e podem diferir dos resultados obtidos com vários espécimes animais.

Faixa de medição até 2000 U/L. No caso de atividades mais elevadas medir novamente as amostras após diluição manual com solução NaCl (9 g/L).		
Limite de detecção ***	3 U/L	
Estabilidade a bordo	4 semanas	
Estabilidade de calibração	2 semanas	
<b>Substância interferindo</b>	<b>Interferências ≤ 10% até</b>	<b>Concentração de analito [U/L]</b>
<b>Ácido ascórbico</b>	30 mg/dL	96.3
<b>Bilirrubina (conjugada)</b>	70 mg/dL	86.3
	70 mg/dL	194
<b>Bilirrubina (não julgada)</b>	70 mg/dL	84.3
	70 mg/dL	192
<b>Hemoglobina</b>	550 mg/dL	63.6
	550 mg/dL	229
<b>Lipemia (triglicérides)</b>	1000 mg/dL	82.4
	1000 mg/dL	150
Para obter mais informações sobre substâncias interferentes, consulte Young DS. Efeitos de Drogas em Testes Laboratoriais Clínicos. 5ª ed. Volume 1 e 2. Washington, DC: A Associação Americana de Imprensa de Química Clínica, 2000.		

de acordo com o documento CLSI EP17-A, Vol. 24, Não. 34

Fator de conversão

$$\alpha\text{-Amilase [U/L]} \times 0,0167 = \alpha\text{-Amilase } [\mu\text{kat/L}]$$

**Faixa de referência**

		
<b>CÃO</b>	<b>GATO</b>	<b>Unidade</b>
<b>207 - 1085</b>	<b>504 - 1745</b>	<b>U/L</b>

As faixas de referência foram validadas pela DiaSys USA de acordo com as normas do National Reference Laboratory.

Cada laboratório deve verificar se as faixas de referência são transferíveis para sua própria população animal e determinar as próprias faixas de referência, se necessário.















**LITERATURA**

- Lorentz K. alfa Amylase. In: Thomas L, editor. Clinical laboratory diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998.p.46-51.
- Moss DW, Henderson AR. Digestive enzymes of pancreatic origin. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical

Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company;1999.p.689-98.

- Kruse-Jarres JD, Kaiser C, Hafkenscheid JC, Hohenwallner W, Stein W., Bohner J et al. Evaluation of a new alpha amylase assay using 4,6-ethylidene-(G7)-1-4-nitrophenyl-(G1)-alpha-D-maltoheptaoside as substrate. J Clin Chem Biochem 1989;27:103-13.
- Schumann G, Bonora R, Ceriotti F Féar G et al. IFCC primary reference procedure for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Clin Chem Lab Med 2006;44(9):1146-1155.
- Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. ClinChemLabMed 2007;45(9):1240-1243.
- Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001. p. 50-1.
- Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Testes. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
- Junge W, Wortmann W, Wilke B, Waldenstroem J et al. Development and evaluation of assays for determination of total and pancreatic amylase at 37 °C according to the principle recommended by the IFCC. Clin Biochem 2001;34:607-15.

**INFORMAÇÕES AO CONSUMIDOR**
**Símbolos usados**

	Fabricante
	Limite de temperatura
	Produto para a saúde para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Cuidado
	Consultar as instruções para utilização
	Material reciclável
	Não rejeitar diretamente para o ambiente
	Código do lote
	Data de fabricação
	Validade
	Riscos biológicos
	Altamente tóxico
	Corrosivo
	Nocivo

**ASSESSORIA TÉCNICA**

Para esclarecimentos de dúvidas e assessoria técnica ligue:

**(31) 3309-9262**

e-mail: [service@focovet.com.br](mailto:service@focovet.com.br)

 CNPJ: 04.842.199/0001-56

**Data de vencimento e nº de Lote: VIDE RÓTULO**