

ALFA-AMYLASE CC FS*

ALFA-AMILASE CC FS*

Reagente diagnóstico para determinação quantitativa *in vitro* de Alfa-Amilase no soro, plasma ou urina em sistemas fotométricos.
Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

Nº de lote data de fabricação e validade: vide rótulos dos frascos e da embalagem.

Artigo	Apresentação
1 0501 99 10 021	R1 5 x 20 mL + R2 1 x 25 mL
1 0501 99 10 026	R1 5 x 80 mL + R2 1 x 100 mL
1 0501 99 10 921	R1 4 x 21,3 mL + R2 4 x 6,8 mL (480 testes)
1 0501 99 10 964	R1 6 x 16,2 mL + R2 6 x 6,6 mL (900 testes)

SUMÁRIO

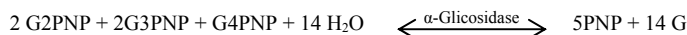
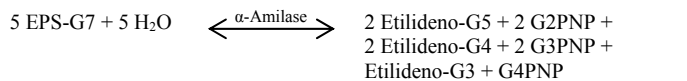
As α -Amilases são enzimas hidrolíticas que quebram o amido em maltose. No corpo humano, as α -Amilases são originadas a partir de vários órgãos: a amilase pancreática é produzida pelo pâncreas e liberada no trato intestinal, a amilase salivar é sintetizada nas glândulas salivares e secretada na saliva. A amilase presente no sangue é eliminada através do rim e excretada na urina. Portanto, a elevação da atividade sérica está refletida em um aumento da atividade da amilase urinária.

A medição da α -Amilase no soro e na urina é utilizada principalmente para o diagnóstico de desordens pancreáticas como também para detectar o desenvolvimento de complicações. Na pancreatite aguda, a atividade da amilase sanguínea aumenta em poucas horas após o começo da dor abdominal, alcança o pico máximo após aproximadamente 12 horas e retorna aos níveis dentro dos valores de referência, no mais tardar, em 5 dias. A especificidade da α -Amilase para as desordens pancreáticas não é muito alta, como níveis elevados são medidos também em diversas doenças não-pancreáticas, como por exemplo, parotidites e insuficiência renal. Portanto, para confirmação de uma pancreatite aguda, a medição da Lipase também deve ser feita.

MÉTODO

Teste fotométrico enzimático, no qual o substrato 4,6-Etilideno-(G7)-p-nitrofenil-(G1)- α -D-maltoheptaoside (EPS-G7) é clivado pelas α -Amilases em vários fragmentos. Estes são também hidrolisados, em uma segunda etapa, pela α -Glicosidase produzindo glicose e p-Nitrofenol. O aumento na absorbância representa a atividade da amilase total (pancreática e salivar) na amostra.

PRINCÍPIO



(PNP = p-Nitrofenol; G = Glicose)

REAGENTES

Componentes e Concentrações:

R1 \Rightarrow	Tampão Good	pH 7.15	0.1 mol/L
	NaCl		62.5 mmol/L
	MgCl ₂		12.5 mmol/L
	α -Glicosidase		≥ 2 kU/L
R2 \Rightarrow	Tampão Good	pH 7.15	0.1 mmol/L
	EPS-G7		8.5 mmol/L

INSTRUÇÕES DE ARMAZENAGEM E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes são estáveis até o final do mês da data de validade indicada no rótulo, se armazenados à 2 - 8 °C, protegidos da luz e se a contaminação for evitada. Não congelar os reagentes!

CUIDADOS E PRECAUÇÕES

1. A saliva e a pele contêm α -amilase, portanto, nunca pipete os reagentes com a boca e evite contato dos reagentes com a pele.
2. Os reagentes contêm Azida Sódica (0.95 g/L) como conservante. Não ingerir! Evite contato com a pele e membranas da mucosa.
3. Tome as precauções necessárias para o manuseio de reagentes de laboratório.

GARANTIA

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

DESCARTE

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

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Partida com Substrato

Os reagentes estão prontos para uso.

Partida com Amostra

Misturar 4 partes de R1 + 1 parte de R2

(Ex: 20 mL de R1 + 5 mL de R2) = monorreagente

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

Proteger o monorreagente da luz!

MATERIAIS REQUERIDOS MAS NÃO FORNECIDOS

Solução NaCl 9 g/L.

Equipamento geral de laboratório.

AMOSTRA

Soro, Plasma heparinizado, Plasma em EDTA ou Urina.

Estabilidade no soro/plasma: 7 dias à 20 - 25 °C
7 dias à 4 - 8 °C
1 ano à - 20°C

Estabilidade na urina: 2 dias à 20 - 25 °C
10 dias à 4 - 8 °C
3 semanas à - 20°C

Descarte amostras contaminadas!

PROCEDIMENTOS DO TESTE

Aplicações para sistemas automáticos estão disponíveis quando solicitadas ou em nosso site www.biosys.com.br

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

Partida com Substrato

	Branco	Soro/Plasma	Urina
Amostra/Calibrador	-	20 µL	10 µL
Reagente 1	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Misturar, incubar por aproximadamente 1 minuto e então adicionar:			
Reagente 2	250 µL	250 µL	250 µL
Misturar, ler a absorbância A1 após 2 minutos e disparar o cronômetro. Ler a absorbância A2 novamente após 1, 2 e 3 minutos.			

Partida com Amostra

	Branco	Soro/Plasma	Urina
Amostra/Calibrador	-	20 µL	10 µL
Monorreagente	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Misturar, ler a absorbância A1 após 2 minutos e disparar o cronômetro. Ler a absorbância A2 novamente após 1, 2 e 3 minutos.			

CÁLCULOS

Com fator

A partir das leituras das absorbâncias, calcule o $\Delta A/\text{min}$ e multiplique pelo fator correspondente da tabela abaixo:

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

	Partida com Substrato	Partida com Amostra
Soro / Plasma	5670	4554
Urina	11250	9018

Com calibrador

$\alpha - \text{Amilase [U/L]} = \frac{\Delta A/\text{min Amostra}}{\Delta A/\text{min Calibrador}} \times \text{Conc. Calibrador}$

CALIBRADORES E CONTROLES

Para a calibração de sistemas fotométricos automáticos, o calibrador TruCal U DiaSys é recomendado. Para o controle de qualidade interno, os controles TruLab N e P DiaSys e TruLab Urina DiaSys devem ser passados com cada série de amostras.

	Artigo	Apresentação
TruCal U	5 9100 99 10 063	20 x 3 mL
TruLab N	5 9000 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9000 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab Urina (nível 1)	5 9170 99 10 062	20 x 5 mL
TruLab Urina (nível 2)	5 9180 99 10 062	20 x 5 mL

DESEMPENHO / CARACTERÍSTICAS

Faixa de Medição

Em sistemas automáticos o teste é adequado para a determinação das atividades da α -Amilase até 2000 U/L.

No caso de um procedimento manual, o teste é adequado para as atividades da α -Amilase que correspondem a um máximo de $\Delta A/\text{min}$ de 0.35.

Se esses valores forem excedidos, as amostras devem ser diluídas 1 + 9 com Solução de NaCl (9 g/L) e os resultados multiplicados por 10.

Especificidades / Interferentes

Nenhuma interferência foi observada por Ácido Ascórbico até 30 mg/dL, Bilirrubina até 40 mg/dL e Lipemia até 1000 mg/dL de Triglicerídeos. A Hemoglobina interfere mesmo em concentrações baixas.

Sensibilidade / Limite de Detecção

O limite mínimo de detecção é de 3 U/L.

Precisão

Precisão intra-ensaio n = 20	Média [U/L]	DP [U/L]	CV [%]
Amostra 1	184	2.00	1.08
Amostra 2	398	2.67	0.67
Amostra 3	841	4.96	0.59

Precisão inter-ensaio n = 20	Média [U/L]	DP [U/L]	CV [%]
Amostra 1	180	1.82	1.01
Amostra 2	383	3.74	0.97
Amostra 3	817	7.48	0.92

Comparação de Métodos

Uma comparação da α -Amilase CC FS DiaSys (y) com o método de rotina recomendado (x) usando 51 amostras, obteve os seguintes resultados:
 $y = 0.964x - 2.455 \text{ U/L}$; $r = 0.998$

Uma comparação da α -Amilase CC FS DiaSys (y) com um teste disponível no mercado (x) usando 51 amostras, obteve os seguintes resultados:
 $y = 1.031x - 3.613 \text{ U/L}$; $r = 0.994$

VALORES DE REFERÊNCIA

	Mulheres	Homens
Soro / Plasma	< 100 U/L	< 100 U/L
Urina	< 447 U/L	< 491 U/L

Cada laboratório deve verificar se os valores de referência podem ser utilizados na sua própria população de pacientes e determinar seus próprios valores de referência, se necessário.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS PARA USO NO REPOS 920

Faixa de medição: até 2000 U/L de α -amilase (no caso de concentrações mais elevadas, medir novamente após diluição manual ou utilizar a função <i>rerun</i> do equipamento).	
Limite de detecção**	3 U/L de α -amilase
Estabilidade on-board	4 semanas
Estabilidade de calibração	4 semanas

Interferência < 10% por:	
Ácido Ascórbico até 30 mg/dL	
Hemoglobina interfere em pequenas concentrações	
Bilirrubina até 60 mg/dL	
Lipemia (triglicerídeos) até 2000 mg/dL	

Precisão			
Intra-ensaio (n=20)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Média (U/L)	73.6	281	352
C.V. (%)	1.15	1.75	1.35
Inter-ensaio (n=20)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Média (UL)	71.9	272	356
C.V. (%)	1.90	1.78	2.15

Comparação de Métodos (n=108)	
Teste x	α -amilase CC FS DiaSys (Hitachi 917)
Teste y	α -amilase CC FS DiaSys (respons@920)
Slope	0.999
Interceptação	0.097 U/L
Coefficiente de Correlação	1.00

** Menor concentração mensurável que pode ser distinguida de zero significa + 3 SD (n = 20) de uma amostra analito livre

CUIDADOS E PRECAUÇÕES

Para evitar contaminação cruzada realizar de uma lavagem eficiente, principalmente após usar reagentes que causem interferência. Consulte a tabela de reagentes Interferentes da DiaSys para o respons@920. Reagentes interferentes e lavagens automáticas com a solução de limpeza recomendada podem estar especificadas no software. Favor utilizar o manual de usuário.

PREPARAÇÃO DO REAGENTE

Os reagentes estão prontos para uso. Os frascos para o Respons podem ser colocados diretamente no rotor de reagentes e conferem proteção à luz.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS PARA USO NO BIOMAJESTY JCA-BM6010/C

Faixa de medição: até 1920 U/L (32 μ kat/L) de α -amilase (no caso de concentrações mais elevadas, medir novamente após diluição manual ou utilizar a função <i>rerun</i> do equipamento).	
Limite de detecção**	0.6 U/L (0.01 μ kat /L) de α -amilase
Estabilidade on-board	6 semanas
Estabilidade de calibração	6 semanas

Interferência < 10% por:	
Ácido Ascórbico até 30 mg/dL	
Hemólise interfere	
Bilirrubina Conjugada ou não Conjugada até 60 mg/dL	
Lipemia (triglicerídeos) até 1200 mg/dL	

Precisão (soro/plasma)			
Intra-ensaio (n=20)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Média (U/L)	36.9	74.9	238
Média (μ kat/L)	0.616	1.25	3.97
C.V. (%)	1.86	1.11	0.78
Inter-ensaio (n=20)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Média (U/L)	37.2	119	242
Média (μ kat /L)	0.622	1.98	4.04
C.V. (%)	1.83	1.59	1.90

Comparação de Métodos (soro/plasma; n=100)	
Teste x	α -amilase concorrente
Teste y	α -amilase CC FS DiaSys
Slope	0.973
Interceptação	-3.17 U/L (-0.053 μ kat/L)
Coefficiente de Correlação	0.999

Precisão (urina)			
Intra-ensaio (n=20)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Média (U/L)	16.8	44.7	126
Média (μ kat/L)	0.280	0.746	2.10
C.V. (%)	0.80	0.80	0.41
Inter-ensaio (n=20)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Média (U/L)	16.7	44.7	126
Média (μ kat /L)	0.279	0.747	2.10
C.V. (%)	2.30	0.79	0.76

Comparação de Métodos (urina; n=100)	
Teste x	α -amilase concorrente
Teste y	α -amilase CC FS DiaSys
Slope	0.986
Interceptação	-1.50 U/L (-0.025 μ kat/L)
Coefficiente de Correlação	0.999

** Menor concentração mensurável que pode ser distinguida de zero significa + 3 SD (n = 20) de uma amostra analito livre

LITERATURA

1. Lorentz K. α -Amylase. In: Thomas L, editor. Clinical laboratory diagnostics. 1^o ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 192-202.
2. Moss DW, Henderson AR. Digestive enzymes of pancreatic origin. In: Burtis CA, Ashwood ER, editores. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3^a ed. Filadélfia: W.B Saunders Company; 1999.p.689-98.
3. Kruse-Jarres JD, Kaiser C, Hafkenschied 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.
4. Schumann G, Aoki R, Ferrero CA et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Clin Chem Lab Med 2006; 44(9): 1146-1155.
5. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1^o ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 16-7, 50-1.
6. 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;34:607-1

DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim – Alemanha