



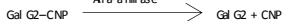
Afa Amilase Responsável Técnico
Dr. Glison Séri Rizzo
CRF MG – 5310
MS 80027310202
Alpha Amylase / Alfa Amilase
Ref. 11.001.00

R NALIDADE

Kit destinado a determinar a atividade enzimática da alfa-amilase no soro, plasma, urina, líquido do ascítico e Pleural.

PRINCÍPIO DO MÉTODO

Este kit utiliza o substrato G-Glú-CNIP (2-d-oro-4-nitrofenil-galactopiranosil maltodose) que é diretamente hidrolisado pela α-amilase da amostra produzindo 4-d-nitrofenol (CNP). O CNP absorve luz em 405 nm e a variabilidade de aparecimento do cor é diretamente proporcional a atividade enzimática.



COMPOSIÇÃO DOS REAGENTES

R 1	Tampão MES 50 mmol/L pH 6,00, 0,0 ret de sódio 70 mmol/L; 0,0 ret de Cálcio 6 mmol/L; Gal-Glú-CNIP 2,22 mmol/L; Ácido Sódico 0,095%	X
------------	--	----------

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

- Estabilidade: Estável até a data de validade do kit que está impressa no rótulo do embalagem
- Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.
- Conservar de 2 a 8 °C
- Os reagentes devem permanecer fora da temperatura especificada somente o tempo necessário para a realização dos testes.
- Não congelar e manter ao abrigo da luz.

MATERIAL NECESSÁRIO O NÃO FORNECIDO

- Espectrofotômetro ou fotômetro para leitura em 405 nm
- Banho de água, termostaticado a 37 °C
- Pipetas de vidro e/ou automáticas.
- Tubo de 0,9 mL
- Rebas de ensaio

CU DADOS E PRECAUÇÕES

- O kit destina-se somente para uso diagnóstico in vitro
- As amostras a serem analisadas devem ser tratadas como material potencialmente infeccioso e utilizar os EPI's de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico
- Descartar as sobras das reações de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico (BPLC) e Programa de Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde (PGRSS).
- As informações de Descarte, Segurança e Riscos Socorristas estão descritas na Ficha Individual de Segurança de Produtos Químicos (RSPQ) deste produto disponível em www.biotecnica.ind.br ou pelo telefone (35) - 3214-4646.
- Não misturar reagentes de lotes diferentes.
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada.
- Não usar o reagente quando este apresentar característica visual em desacordo com o especificado na RSPQ do produto
- Evitar deixar os reagentes fora das condições de armazenamento especificadas, quando os mesmos não estiverem em uso
- Usar pipetas de vidro e ponteiros descartáveis específicos para cada amostra, controle, padrão/calibrador e reagente.
- O nível de água do banho-maria deve ser superior ao dos tubos de ensaio que contém as reações.
- Cuidados a serem tomados para evitar a contaminação do Ri: Não pipetar o reagente com a boca, não soprar, não usar material contaminado com saliva e suor, não conversar próximo ao frasco de tampado já que quantidades microscópicas de saliva e suor podem deteriorar o reagente. Recomenda-se o uso de luvas de látex e depois de utilizar o Ri tapar, proteger da luz e conservar de 2-8 °C

A MOSTRA - PREPARO E ESTABILIDADE

- Soro e Plasma (heparina): α-amilase é estável por 7 dias se conservada em temperatura de 2 a 8 °C
 - Urina: Utilizar a amostra corrigida no período de 24 horas, não havendo necessidade de adicionar conservantes.
 - Retirar uma aliquota e centrifugar por 10 minutos a 3000 rpm
 - Utilizar o sobrenadante para proceder o ensaio
- A α-amilase é estável por 7 dias de 2 a 8 °C após ajuste do pH para 7,0 usando HCl 0,1N ou NaOH 0,1N
- Líquido do Ascítico e Pleural
 - Centrifugar por 10 minutos a 3000 rpm
 - Utilizar o sobrenadante para proceder o ensaio

PROCEDIMENTO TÉCNICO

A) PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Reagente pronto para uso
O reagente fechado é estável até a validade impressa no rótulo se armazenado de 2-8 °C. Após aberto o reagente é estável 30 dias desde que tampado imediatamente após o uso e armazenado de 2-8 °C. Durante o manuseio os reagentes estão sujeitos a contaminações de natureza química e microbiana que pode provocar redução de estabilidade.
OBS: A absorbância do reagente superior a 0,600 em 405 nm, zerado com água purificada indica deterioração do mesmo.
B) PROCEDIMENTO

B IOTÉCNICA IND COM LTDA - CNPJ: 02534069000120 - Avenida Vêshingon Riberão, 200 - Indústria Miguel de Luca CEP 37072-030 Varjão - MG BRAS L Tel/fax: +55 35 3214 4646 www.biotecnica.ind.br

1. Pré-aquecer o Reagente durante três minutos a 37 °C
2. Pipetar e emuntubo de ensaio

R1	Volumen
	1,0 mL
Amostra	10 µL

3. Homogeneizar e inserir no porta-cubetas termostaticado.
4. Após 1 minuto anotar a absorbância (A) e efetuar novas leituras após mais 1, 2 e 3 minutos (A, A e A respectivamente).

PROCEDIMENTO DE CALIBRAÇÃO/CÁLCULOS

Usando as leituras das absorbâncias, calcular a média da variação da absorbância por minuto ($\Delta A/n\text{min}$):

$$(\Delta A/n\text{min}) = \frac{(A - A) + (A - A) + (A - A)}{3}$$

A atividade da α-amilase na amostra é calculada pela multiplicação do $\Delta A/n\text{min}$ pelo seguinte fator:

$$\text{Amilase (U/L)} = \Delta A/n\text{min} \times 6196$$

Exemplo

$$A = 0,200 \quad A = 0,207 \quad A = 0,214 \quad A = 0,220$$

$$\Delta A/n\text{min} = \frac{(0,207 - 0,200) + (0,214 - 0,207) + (0,220 - 0,214)}{3}$$

$$\Delta A/n\text{min} = 0,007 \quad \text{Amilase (U/L)} = 0,007 \times 6196 = 43,37 \text{ U/L}$$

Amilase Uridinária/Hora

$$\text{Amilase Uridinária/Hora (U/H)} = \text{Amilase (U/L)} \times \text{volumen uridário (mL)} \times 1000 \times \text{tempo de coleta (H)}$$

OBS: Para cálculo de Fator nas adaptações em analisadores automáticos utilizar coeficiente de absorvidade do Glú-CNIP = 16,3

SENSIBILIDADE E LINEARIDADE

- Sensibilidade: Método gráfico: Cálculo: 6,19 U/L / Experimental: 3,167 U/L
- Linearidade: 1000 U/L. Para valores superiores, diluir a amostra com NaCl 150 mM (0,9%), realizar nova dosagem multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

LIMITAÇÕES DA TÉCNICA

- Anticoagulantes: Fluoretato, oxalato, citrato e EDTA interferem produzindo resultados falsamente diminuídos.
- Hemólise, lictéria e lipemia: Hemoglobina ≥ 180 mg/dL / Bilirrubina ≥ 20 mg/dL / Triglicérides ≥ 1500 mg/dL
- Medicamentos: Válvulas falsamente elevados: Meprednolona, codeína, morfina, álcool, diuréticos, sais dilúos e tetraciclina

CONTROLE DA QUALIDADE

Todo laboratório clínico deve manter um programa de controle interno da qualidade que defina os parâmetros os objetivos, procedimentos, normas e critérios para a realização de análises corrotivas e registro das atividades. Ao mesmo tempo, deve ser mantido um sistema definido para monitorar a variabilidade analítica que ocorre em todo o sistema de medição. O uso de controles para avaliar a imprecisão das determinações deve ser prática rotineira no laboratório. Sugere-se usar um controle na faixa de referência ou no nível de decisão e outro controle com valor ou outra faixa de significância clínica. A aplicação do sistema de regras múltiplas de Westgard para avaliação do estado de controle também é recomendável. O laboratório deve partir do programa mes de controle e exter no de qualidade a fim de verificar a exatidão de seus resultados. Têm-se como exemplo o programa de estudos pela SBAC (Sociedade Brasileira de Análises Clínicas) e SBPC (Sociedade Brasileira de Patologia Clínica). Para Calibração e Controle Interno de Qualidade Laboratorial recomenda-se o uso do soro calibrador e dos soros controle abaixo:

Soro Calibrador - Autocal - Quanti no m	13.002.00
Soro Controle e Normais - Quanti no m	13.003.00
Soro Controle e Patológico - Quanti al t	13.004.00

VALORES DE REFERÊNCIA

	37 °C
Soro/Plasma	< 86 U/L
Urina	< 470 U/L
Líquido do Ascítico	20 a 104 U/L
Líquido Pleural	20 a 104 U/L

Estes valores são unicamente para orientação, sendo recomendável que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência
Conversão para Unidade do Sistema Internacional (SI): Amilase (U/L) x 0,017 = Amilase (µkat/L)

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Repetibilidade

A realização de 20 determinações de uma mesma amostra em um mesmo dia com valores dentro da faixa de referência a mostrar um Coeficiente de Variação de 3,81%

Reprodutibilidade

A realização de 10 determinações de uma mesma amostra, analisada em dias diferentes mostrou um Coeficiente de Variação de 2,04%

Especificidade Analítica

A comparação com um método simplificado, já validado, mostrou um coeficiente de correlação r, igual a 0,995 a partir de amostras obtidas de pacientes de um laboratório. A equação de regressão obtida foi Y = 1,0031 X - 3,3254.

SIGNIFICADO CLÍNICO

α-amilase é uma hidrolase que tem a função de degradar complexos de carboidratos. São conhecidas duas isoenzimas: a pancreática e a salivar, que estão presentes na proporção de 40:60 e em indivíduos saudáveis. As dosagens da amilase sérica e urinária são amplamente utilizadas no

diagnóstico de doenças do pâncreas, bem como na investigação da função pancreática. Na maioria dos pacientes com pancreatite aguda, seus níveis séricos elevam-se de 2 a 12 horas após o início do episódio atingindo o pico em 24 horas e retornando ao valor normal entre 48 e 72 horas. A magnitude da elevação sérica não é diretamente relacionada com a gravidade do envolvimento pancreático, mas indica, com grande probabilidade, um diagnóstico de pancreatite aguda. Aumento da amilase sérica não são necessários em todos os casos de pancreatite. Tumores de pulmão e de ovário podem produzir hiperamilasemia em torno de 50 vezes maior que o valor de referência. Na insuficiência renal, está aumentada em proporção à extensão do comprometimento renal. Amilase sérica normal pode ser encontrada em pacientes com pancreatite aguda (em torno de 20% Em episódios agudos de pancreatite crônica, níveis de amilase podem estar ligeiramente aumentados, porém frequentemente, por manuseio em níveis normais. A amilase pode ligar-se a proteínas (ex: imunoglobulinas), formando complexos de alto peso molecular denominados macroamilases. Isso é caracterizado por amilase sérica elevada e urinária normal e pode ocorrer em indivíduos saudáveis sem significado clínico.

Níveis aumentados	Níveis diminuídos
Pancreatite	Insuficiência pancreática
Pancreatite aguda	Fibrose cística avançada
Macroamilasemia	Hepatopatia graves
Gravidectópica	
Oclusão mesentérica	
Queimaduras graves	
Lesão de glândula salivar	
Doença intra-abdominal (peritonite, apendicite aguda etc.)	
Intoxicação alcohólica	
Insuficiência renal grave	
Obstrução das vias biliares	
Obstrução intestinal	
Obstrução do canal pancreático	
Câncer de pâncreas	
Cetoacidose diabética	
Neoplásias (pulmão ou ovário)	

AMILASE URINÁRIA

Após madamente 25% da amilase sérica é normalmente excretada na urina e portanto, elevações séricas se refletem na mesma. A amilase urinária parece atingir níveis mais elevados que persistem por períodos mais longos, quando comparada com a amilase sérica. A determinação da amilase urinária é utilizada principalmente na monitorização de pacientes submetidos a transplante de pâncreas onde um bom prognóstico é esperado na ocorrência de valores bastantes elevados.

Relação entre a amilase e a creatinina (clearance da amilase) auxilia no diagnóstico diferencial da macroamilasemia (clearance muito baixo). A relação normal é de 1% a 4%. Encontram-se aumentada na pancreatite aguda, diminuída na macroamilasemia e normal ou pouco diminuída na hiperamilasemia salivar.

OBSERVAÇÕES

1. O laboratório deve estabelecer os requisitos químicos, microbiológicos e de partículas para a água utilizada do seu uso para cada uma das suas aplicações e deve definir as especificações ou tipos de água que se atenda. Uma vez que a pureza necessária tenha sido definida, o sistema de purificação deve ser validado e é importante garantir que a água obtida continue a atender às especificações por meio de verificações periódicas.
2. A limpeza e secagem adequadas do material usado são fatores fundamentais para a estabilidade das reagentes e obtenção de resultados corretos.

GARANTIA DE QUALIDADE/SAC - SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes Biotécnica são testados pelo Departamento de Controle e 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 especificadas. Os dados relativos ao Controle e Qualidade deste produto ou qual quer dúvida na utilização deste kit, entrar em contato com a Assessoria Técnica da Biotécnica Ltda, através do telefone +55 35 3214 4646 ou pelo e-mail sac@biotecnicaltda.com.br

AUTOMAÇÃO

Este procedimento é automatizável na maioria dos analisadores. Os protocolos estão disponíveis em www.biotecnica.ind.br

ENGLISH

INTENDED USE

Kit intended to determine of Alpha amylase activity in serum plasma, urine, pleural and ascitic fluids.

PRINCIPLE OF THE METHOD

This kit uses the substrate G-Glú-CNIP (2-chloro-4-nitrophenyl-galactopyranosil maltodose) which is hydrolyzed by the Alpha-amylase from sample releasing the Cl or 4-nitrophenol (CNP). The CNP absorbs light at 405 nm and the absorbance increase is measured as the enzymatic activity.



REAGENT COMPOSITION

R 1	MES buffer 50 mmol/L pH 6,00, Sodium Chloride 70 mmol/L; Calcium Chloride 6 mmol/L; Gal-Glú-CNIP 2,22 mmol/L; Sodium Azide 0,095%	X
------------	---	----------

STORAGE AND STABILITY

- The reagents are stable up to the date stated on the label.
- Do not use reagents over the expiration date.
- Store at 2 to 8 °C
- Do not freeze and protect from light.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or photometer with a thermostatic cuvette able to read at 405 nm

- Water bath, thermostatically controlled at 37 °C.
- Pipettes and micropipettes.
- Clock or chronometer.
- The reagents must remain outside of the specified temperature only the necessary time to carry out the tests.
- Assay tubes.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- The kit is intended for in vitro diagnostic use only.
- All speed mes and controls should be handled as potentially infective.
- Wear the individual protective equipment according to Good Laboratory Practice.
- Discard the reaction surplus according to Good Laboratory Practice in a proper place for potentially infective material.
- The information for Disposing Security and first Aid are described in the Manual Safety Data Sheet (MSDS) of this product available at www.biotecnica.ind.br or calling for 55-35-3214-4646.
- Do not combine reagents from different batches.
- Do not exchange the caps from different reagents in order to avoid cross contamination.
- Do not use the reagent if it displays any sign of contamination.
- The reagents must be kept out of specified temperatures only the time necessary for the realization of the tests.
- Use glass pipettes and disposable tips for each sample control, standard/calibrator and reagent.
- The level of water in the thermostatic bath must be over the level of mix reaction with in the assay tubes.
- Precautions to observe in order to avoid the contamination of Ri: Do not pipette the reagent by mouth, do not wipe, do not use glassware contaminated with saliva or sweat. Do not talk near the uncapped flasks since it may contaminate reversibly the reagents. It is advisable to use latex gloves. After using the reagent cap immediately and store at 2 to 8 °C protected from the light.

SAMPLE - PREPARATION AND STABILITY

- Serum or plasma (Heparin): The alpha-amylase in serum and plasma (heparin) is stable for 7 days at 2 to 8 °C
- Urine: Work with samples collected within the period of 24 hours. It's not necessary to add preservatives.
- Centrifuge the sample for 10 minutes at 3000 rpm
- Execute the assay using the supernatant.

The alpha-amylase in Urine is stable for 7 days at 2 to 8 °C at 7,0 pH. Adjust the pH with HCl 0,1 N or NaOH 0,1 sd utions.

- Ascitic and Pleural Fluids
- Centrifuge the sample for 10 minutes at 3000 rpm
- Execute the assay using the supernatant.

TECHNICAL PREPARATION

A) REAGENT PREPARATION

The reagent is ready to use
If closed, the reagent is stable up to expiration date stated on the label, if stored at 2 to 8 °C. Once opened the reagent is stable 30 days, since it is designed immediately after use and stored at 2 to 8 °C. During handling the reagent is susceptible to chemical and microbiological contamination which may reduce the reagent stability.

Note: The absorbance of the reagent above 0,600 at 405 nm with the instrument adjusted to zero with still red or deionized water, indicates deterioration.

B) PROCEDURE

1. Heat the reagent for 3 minutes at 37 °C
2. Pipette in the assay tube:

R 1	Volumen
	1,0 mL
Sample	10 µL

3. Homogeneizar e inserir imediatamente no termostaticado cuvette
4. Após 1 min, note the initial absorbance (A) and read again after exactly 1, 2 and 3 minutes (A, A e A, respectively).

CALIBRATION/CALCULATION PROCEDURES

Using the measured absorbances, calculate the mean variation of absorbance per minute ($\Delta A/n\text{min}$):

$$(\Delta A/n\text{min}) = \frac{(A - A) + (A - A) + (A - A)}{3}$$

The activity of the Alpha-amylase is then calculated by multiplying the $\Delta A/n\text{min}$ by the factor below

$$\text{Alpha-amylase (U/L)} = \Delta A/n\text{min} \times 6196$$

Uridin Amylase per Hour
Uridin Amylase/Hour (U/H) = Amylase (U/L) x urinary volumen (mL) / 1000 x collection time (hours)

Note: To calculate the Factor for automatic analyzers use the absorptivity coefficient of Gal-Glú-CNIP = 16,3

SENSITIVITY AND LINEARITY

- Methodology of Sensitivity: Cálculo do método: 6,19 U/L / Experimental method: 3,167 U/L - Linearity: 1000 U/L. For higher values, use the sample with NaCl 150 mM (0,9%) sd ution, repeat the assay and multiply the obtained result by the dilution factor.

TECHNICAL LIMITATIONS

- Anticoagulants: Fluoride, oxalate, citrate and EDTA may interfere with the Alpha-amylase activity leading to false low results.
- Hemolyzed, Jaundiced and Lipemic Serum: Hemoglobina ≥ 180 mg/dL / Bilirrubina ≥ 20 mg/dL / Triglicérides ≥ 1500 mg/dL
- Medication Effects: False Elevated Results: Meprednolona, codeína, morfina, álcool, diuréticos, sais dilúos e tetracyclina

QUALITY CONTRL	
Any clinical laboratory must keep an internal quality control program which defines the aids, procedures and criteria for the tolerance limits, corrective actions and registration of the activities. Also it must be kept a defined system of verification of the analytical variability that occurs in any measuring system. The use of controls to evaluate the imprecision of the analysis must be a routine practice in the lab. It's suggested to use a control within the reference range and other control within the clinical significance range. The application of the Multiple Rules of Westgard for evaluation of the control state is recommended. The lab must participate of external quality control programs. For the internal quality control of the lab it's indicated the use of the calibrator serum control sera below	
Calibrator Serum- Autoal H	13.002.00
Normal Control Serum- Quanti norm	REF 13.003.00
Pathological Control Serum- Quanti At	13.004.00

REFERENCE RANGES	
	ACTIVITY AT 37 °C
Serum	< 86 U/L
Urine	< 470 U/L
Ascitic Fluid	20 a 104 U/L
Pericardial Fluid	20 a 104 U/L

These values are intended for orientation only. It's recommended that each lab establishes its own reference range.

Conversion for International System of Units (SI): $\mu\text{kat/L}$
 A-pha-amylase (U/L) \times Q.017 = A-pha-amylase ($\mu\text{kat/L}$)

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Intra-Assay
 The measurement of 20 determinations of the same sample at the same day showed a Coefficient of Variation of 3.81%

Inter-Assay
 The measurement of 10 determinations of the same sample at different days showed a Coefficient of Variation of 2,04%

Analytical Specificity
 A comparison with a reference method showed a correlation coefficient (r) of 0.995 obtained from analytical samples. The result equation of the linear regression is $Y = 1,0031 X - 3,3254$.

CLINICAL SIGNIFICANCE

The A-pha-amylase is an enzyme that hydrolyzes carbohydrate complexes. There are two A-pha-amylase isoenzymes being one from pancreatic and other from salivary gland origin. It's known that pancreatic and salivary A-pha-amylases are present in a 40:60 proportion in healthy individuals. The determination of serum and urinary A-pha-amylases are widely used in the diagnosis of pancreas diseases as well as investigations of pancreatic function. In the most patients with acute pancreas inflammation, the serum level of A-pha-amylase increases from 2 to 12 hours after the beginning of the inflammation. It reaches a peak in 24 hours and come back to normal values between 48 and 72 hours. The magnitude of the A-pha-amylase serum increases not related to the gravity of the pancreas inflammation but indicates, with high probability, the diagnosis of acute pancreas inflammation. However, the increase of serum A-pha-amylase is not necessarily due to acute pancreas inflammation. Lung and ovarian tumors may cause hyperamylase activity up to 50 times the reference value.

It's estimated that approximately 25% of the serum A-pha-amylase is eliminated in the urine. In kidney injury the A-pha-amylase activity is increased according to the extension of the kidney lesion. Normal A-pha-amylase serum levels may be found in patients with acute pancreas inflammation. In chronic pancreas inflammation the serum A-pha-amylase levels are frequently normal. The A-pha-amylase may bind to serum proteins (such as immunoglobulin) forming high molecular weight complexes known as macroamylases. This is characterized as high serum levels and normal urinary levels and may occur in healthy individuals.

Increased Levels	Decreased levels
Parotid inflammation	Pancreatic insufficiency
Acute pancreas inflammation	Advanced Cystic Fibrosis
Macroamylasemia	Serious Liver injury
Ectopic pregnancy	
Mesenteric occlusion	
Serious burns	
Salivary gland lesion	
Intra-abdominal diseases	
Alcohol intoxication	
Serious kidney insufficiency	
Obstruction of gall bladder ves	
Intestinal obstruction	
Pancreatic duct obstruction	
Pancreas cancer	
Diabetic ketoacidosis	
Lung and ovarian neoplasy	

Urinary A-pha-Amlyase
 A high quantity of serum A-pha-amylase is excreted in the urine. Then, serum increase causes the urine increase. However, the urinary A-pha-amylase may reach more elevated levels and is maintained for longer periods if compared to the serum A-pha-amylase. The macroamylasemia is characterized as high serum levels and normal urine levels. The relation between the A-pha-amylase/creatinine "clearance" helps in the differential diagnosis of macroamylasemia (very low "clearance"). The normal relations is 1% to 4%. This relation is increased in acute pancreas inflammation, decreased in macroamylasemia and normal or discretely decreased in salivary hyperamylasemia.

OBSERVATIONS

B IOTÉCNICA INDCOM LTDA - CNPJ: 025340690001/20. Avenida Vespertino R. 600 - Indústria Miguel de Luca CEP 37072-030 Varigües - MG BRAS L Tel/fax +55 35 3214 4646 www.bioteccalind.com.br

1. The laboratory should establish chemical, microbiological and particulates requirements for the water prior to its use for each of its applications and must define the specifications or types of water that meets them. Once the required purity has been set, the purification system must be validated and it is important to ensure that the resulting water continues to meet specifications by means of periodic checks.

2. The cleaning and drying of the lab material are fundamental factors for the stability of the reagents and reaching correct results.

PRESENTATIONS

QUALITY ASSURANCE/CUSTOMER TECHNICAL SERVICE
 Before being approved for use, Biotécnica reagents are tested in the Quality Control Department. The quality of the reagents is assured up to the expiry date stated in the label of the external packaging, since it is stored and transported in the specified conditions. The quality control data concerning this product or any technical doubt on handling this product or this procedure, contact us calling +55 35 3214 4646, your local distributor or sending an e-mail: sac@bioteccalind.com.br.

AUTOMATION

This product is compatible to the most types of biochemical automatic analysers. The applications are available at www.bioteccalind.com.br.

ESPAÑOL

FINANCIAD

Kit destinado a la determinación de la actividad de la enzima de la alfa-amilasa en el suero, plasma, orina, líquido ascítico y pleural.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Este kit utiliza el sustrato Gal G2-CNP (2-doro-4-nitroetil-galactosil pentaosido) que es directamente hidrolizado por la Alfa-amilasa de la muestra produciendo doroitrógeno (CNP). B-CNP absorbe luz en 405 nm y la velocidad de aparición del color es directamente proporcional a la actividad de la enzima.
 Alfa-amilasa + Gal G2-CNP → Gal G2 + CNP

COMPOSICIÓN DE LOS REACTIVOS	
R 1	Tampón MES 50 mmol/L, pH 6,00; Cloruro de sodio 70 mmol/L; Cloruro de Calcio 6 mmol/L; Gal G2-CNP 2,22 mmol/L; Agua Sódica 0,095%

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Estabilidad: Estable hasta la fecha de validez del kit que está impresa en el rótulo del envase.
- No usar reactivos cuya fecha de validez haya expirado.
- Conservar de 2 a 8 °C.
- Los reactivos deben permanecer fuera de la temperatura especificada sdo el tiempo necesario para la realización de los tests.
- No congelar y mantener al abrigo de la luz.

MATERIAL NECESARIO NO PROMOSTO

- Espectrofotómetro o fotómetro para lectura en 405 nm
- Baño de agua, termostático a 37 °C
- Pipetas de vidrio u/o automáticas.
- Reloj o Cronómetro
- Tubos de ensayo

CUIDADOS Y PRECAUCIONES

- El kit se destina sdo para uso diagnóstico in vitro.
- Las muestras a ser analizadas deben ser tratadas como material potencialmente infeccioso.
- Utilizar los EPI's de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio Clínico.
- Deshechar las sobras de las reacciones de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio Clínico (BPLQ) y Programa de Reacción de Residuos de Servicio de Salud (PGRSS).
- Las instrucciones de Descarte, Seguridad y Primeros Socorros están descritas en la ficha Individual de Seguridad de Productos Químicos (RSPQ) de este producto disponible en www.bioteccalind.com.br o por el teléfono +55 35 3214-4646.

- No mezclar reactivos de lotes diferentes.
- No cambiar las tapas de los frascos de los reactivos, a fin de evitar contaminación cruzada.
- No usar el reactivo cuando éste presente características visuales en desacuerdo con el especificado en la RSPQ del producto.

- Evitar dejar los reactivos fuera de las condiciones de almacenamiento especificadas, cuando los mismos no estén en uso.
- Usar pipetas de vidrio y puntas desechables específicas para cada muestra, control, patrón/calibrador y reactivo.
- El nivel de agua del baño-maria debe ser superior al de los tubos de ensayo que contienen las reacciones.
- No contactar la vidriaría o reactivo con saliva o sudor, debido a sus altos contenidos de α -amilasa. No conversar en las proximidades del frasco destapado, pues el reactivo puede contaminarse irreversiblemente.

MUESTRA - PREPARO Y ESTABILIDAD

- Suero y Plasma (heparina): A Alfa-amilasa es estable por 7 días si se conserva en temperatura de 2 a 8 °C.
- Orina: Utilizar muestra cogida en el período de 24 horas, no habiendo necesidad de agregar conservantes.
- Centrifugar por 10 minutos a 3000 rpm.
- Utilizar el sobrenadante para proceder el ensayo.
- A Alfa-amilasa es estable por 7 días de 2 a 8 °C tras ajuste del pH para 7,0 usando HCl 0,1 N o NaOH 0,1 N.
- Líquido ascítico y pleural.
- Centrifugar por 10 minutos a 3000 rpm.
- Utilizar el sobrenadante para proceder el ensayo.

PROCEDIMIENTO TÉCNICO

A) PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS
 Reactivo listo para uso

El reactivo es estable hasta la fecha de validez impresa en el rótulo del envase al macenado de 2-8 °C. Después de abrirlo es estable 30 días a temperatura ambiente después de usarlo. En este período de reacción está sujeto a contaminación de naturaleza química o microbiana que puede causar disminuciones de la estabilidad.

OBS: La absorbancia de reactivo superior a 0,600 en 405 nm puesto en cero con agua purificada indica deterioración del mismo.

B) PROCEDIMIENTO

- Preparar el Reactivo durante tres minutos a 37 °C.
- Retirar un tubo de ensayo.

	Volumen
R1	1,0 mL
Muestra	10 μ L

- Mezclar cuidadosamente e insertar en el puerto-cubetas termostático.
- Después de 1 minuto apuntar a la absorbancia (A_{405}) y efectuar nuevas lecturas después de 1, 2 y 3 minutos más (A_1 , A_2 e A_3 respectivamente).

PROCEDIMIENTO DE CALIBRACIÓN/CÁLCULOS

Usando las lecturas de las absorbancias, calcular la media de la variación de la absorbancia por minuto ($\Delta A / \Delta t$ min):

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

La actividad de la α -amilasa en la muestra es calculada por la multiplicación del $\Delta A / \Delta t$ min por el siguiente factor:

$$\text{Amilasa (U/L)} = \Delta A / \Delta t_{\text{min}} \times 6196$$

Amilasa Urinaria/Hora
 Amilasa Urinaria/Hora (U/h) = Amilasa (U/L) \times volumen urinario (mL) \times 1000 \times tiempo de cosecha (h)

OBS: Para cálculo de Factor en las adaptaciones en analizadores automáticos utilizar coeficiente de absorbitividad del Gal G2-CNP = 16,3

SENSIBILIDAD Y LINEALIDAD

- Sensibilidad: Método óptico.
- Calculado: 6,19 U/L / Experimentado: 3,167 U/L.
- Linealidad: 1000 U/L. Para valores superiores, diluir la muestra con NaCl 150 mM (0,9%), realizar nueva dosificación y multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución.

LIMITACIONES DE LA TÉCNICA

- Anticoagulantes: Fluoruro, oxalato, citrato y EDTA interfieren produciendo resultados falsamente disminuidos.
- Hemólisis, Ictericidad y Lipemia: Hemoglobina \geq 180 mg/dL / Bilirrubina \geq 20 mg/dL / Triglicéridos \geq 1500 mg/dL.
- Medicamentos: Valeros, falsamente elevados: Meperidina, codeína, norfenadina, alcohol, diuréticos, salicilatos y tetraolína.

CONTROL DE LA CALIDAD

Todo laboratorio clínico debe mantener un programa de control interno de la calidad que defina claramente los objetivos, procedimientos, normas y criterios para los límites de tolerancia, acciones correctivas y registro de las actividades. A más tiempo, debe ser mantenido un sistema definido para monitorear la variabilidad analítica que ocurre en todo sistema de medición. El uso de control de referencia para la medición de las determinaciones en ser práctica rutinaria en el laboratorio o se sugiere usar un control en la falta de referencia o en el nivel de decisión y otro control con valor en otra faja de significado clínico. La aplicación del sistema de reglas múltiples de Westgard para evaluación del estado de control también es recomendable. El laboratorio debe participar de programas de control externo de calidad a fin de verificar la exactitud de sus resultados. Se tiene como ejemplo los programas ofrecidos por la SBAC (Sociedade Brasileira de Análises Clínicas) y SBPC (Sociedade Brasileira de Patología Clínica). Para Calibración y Control Interno de Calidad de Laboratorio se recomienda el uso del suero calibrador y de los sueros control es abajo:

Suero Calibrador - Autoal H	13.002.00
Suero Control Normal - Quanti norm	REF 13.003.00
Suero Control Patológico - Quanti At	13.004.00

VALORES DE REFERENCIA

	37 °C
Suero/Plasma	< 86 U/L
Orina	< 470 U/L
Líquido ascítico	20 a 104 U/L
Líquido pleural	20 a 104 U/L

Estos valores son únicamente para orientación, siendo recomendable que cada laboratorio establezca sus propios niveles de referencia y de referencia.

Conversión para Unidades del Sistema Internacional (SI): Amilasa (U/L) \times Q.017 = Amilasa ($\mu\text{kat/L}$)

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

Repetibilidad

La realización de 20 determinaciones de un mismo muestra en un mismo día con valores dentro de la faja de referencia mostró un Coeficiente de variación de 3,81%.

Reproducibilidad

La realización de 10 determinaciones de una misma muestra, analizada en días diferentes mostró un Coeficiente de Variación de 2,04%.

Especificidad Analítica

La comparación con un método similar, ya validado, mostró un coeficiente de correlación r, igual a 0,995 a partir de muestras de orina obtenidas de pacientes de ambulancia. La ecuación de regresión obtenida fue $Y = 1,0031 X - 3,3254$.

SIGNIFICACIÓN CLÍNICA

A Alfa-amilasa es una enzima que tiene la función de degradar compuestos de carbohidratos. Son conocidos dos enzimas: la pancreática y la salivaria que están presentes en la proporción de 40:60 en individuos sanos. Las dosificaciones de la amilasa sérica y urinaria son ampliamente utilizadas en el diagnóstico de enfermedades de páncreas, así como en la investigación de la función del páncreas. En la mayoría de los pacientes con pancreatitis aguda, sus niveles séricos se elevan de 2 a 12 horas tras el inicio del episodio alcanzando pico en 24 horas y retornando al

valor normal entre 48 y 72 horas. La magnitud de la elevación sérica no es directamente relacionada con la gravedad del evento de páncreas, pero indica, con gran probabilidad, un diagnóstico de pancreatitis aguda. Aumentados de la amilasa sérica no son necesariamente debidos a la pancreatitis. Tumores de pulmón y de ovario pueden producir hiperamilasemia alrededor de 50 veces mayor que el valor de referencia. En la insuficiencia renal está aumentada en proporción a la extensión del compromiso renal. Amilasa sérica normal puede ser encontrada en pacientes con pancreatitis aguda (alrededor de 20%). En episodios agudos de pancreatitis crónica, niveles de amilasa pueden estar ligeramente aumentados, pero a menudo permanecen en niveles normales.

La amilasa puede ligarse a proteínas (ej: inmunoglobulinas), formando complejos de alto peso molecular denominados macroamilasas. Eso es caracterizado por amilasa sérica elevada y urinaria normal y puede ocurrir en individuos sanos si no se ha dado de darlo.

Niveles aumentados	Niveles disminuidos
Parotiditis	Insuficiencia pancreática
Pancreatitis aguda	Fibrosis cística avanzada
Macroamylasemia	Hepatopatías graves
Embarazo ectópico	
Oclusión mesenterica	
Queimaduras graves	
Lesión de glándula salivar	
Enfermedad intra-abdominal (peritonitis, apendicitis aguda etc.)	
Intoxicación alcohólica	
Insuficiencia renal grave	
Obstrucción de las vías biliares	
Obstrucción intestinal	
Obstrucción de canal pancreático	
Cáncer de páncreas	
Cetoacidosis diabética	
Neoplasias (pulmón u ovario)	

AMILASA URINARIA

Aproximadamente 25% de la amilasa sérica es normalmente excretada en la orina y, por lo tanto, elevados niveles séricos se reflejan en la misma. La amilasa urinaria parece atingir niveles más elevados que persisten por períodos más largos, cuando comparada con la amilasa sérica. La determinación de la amilasa urinaria es utilizada principalmente en la monitorización de pacientes sometidos a trasplante de páncreas donde un buen pronóstico es esperado en la ocurrencia de valores bastante elevados.

La relación entre la amilasa y la creatinina (clearance de amilasa) auxilia en el diagnóstico diferencial de la macroamilasemia (clearance muy bajo). La relación normal es de 1% a 4%. Se encuentra aumentada en la pancreatitis aguda, disminuida en la macroamilasemia y normal o poco disminuida en la hiperamilasemia salivar.

OBSERVACIONES

- Cada laboratorio debe establecer requisitos químicos, microbiológicos y de particulas para el agua antes de su uso en cada una de sus aplicaciones y definir las especificaciones o tipos de agua que atiendan sus requisitos. Una vez que la pureza requerida fue establecida, el sistema de purificación debe ser validado y es importante para asegurar que el agua resultante continúa atendiendo las especificaciones y permanecer control de los períodos.
- La limpieza y secado adecuados del material utilizado son factores fundamentales para la estabilidad de los reactivos y obtención de resultados correctos.

GARANTÍA DE CALIDAD / SAC - SERVICIO O DE ASISTENCIA AL CLIENTE

Antes de ser liberados para el consumo, todos los reactivos Biotécnica son testados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos es asegurada hasta la fecha de validez mencionada en el envase de presentación, desde que al macenados y transportados en las condiciones especificadas. Los datos relativos al Control de Calidad de este producto o cualquier duda en la utilización de este kit, entrar en contacto con la Asesoría Científica de la Biotécnica Ltda, a través del teléfono +55 35 3214 4646 o por el e-mail sac@bioteccalind.com.br

AUTOMACIÓN

Este procedimiento es automatizado en la mayoría de los analizadores.

Los protocolos están disponibles en www.bioteccalind.com.br

APRESENTACIONES / PRESENTATIONS / PRESENTATIONS

1	R 1	2 x 15 mL	Σ	30 (1 mL)
2	R 1	4 x 15 mL		60 (1 mL)

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA / REFERENCES / REFERENZIAS

- WINDEEN E.S. et al. Development of a direct assay for amylase. *Qin Chem*, v.34, n.10, p.2005-2008, 1988.
- RAUSCHER E. et al. Optimal mixed cations for determining activity concentration of alpha-amylase in serum. *J Clin Lab Diagn* 4-nitrophenyl malt heptasoside as substrate. *Qin Chem*, v.31, n.1 p.14-19, 1985
- YOUNG D.S. *Effects of drugs on clinical laboratory tests - vol. 2*. 5ed. Washington DC: AACCPress, 2000.
- WESTGARD J. O. et al. A multi-rule shewhart chart quality control in clinical chemistry. *Qin Chem*, v.27, p.493-501, 1981.

TABELA DE SIGLOS INTERNACIONAIS / TABLE OF INTERNATIONAL SYMBOLS / TABELA DE SIGLOS INTERNACIONAIS	Consulte as instruções de uso	Consulte as instruções de uso	Consulte as instruções de uso	Consulte as instruções de uso
	Consulte as instruções de uso	Consulte as instruções de uso	Consulte as instruções de uso	Consulte as instruções de uso
	Código Code	Código Code	Código Code	Código Code
	Número del lote Batch code	Número del lote Batch code	Número del lote Batch code	Número del lote Batch code
	Para uso diagnóstico in vitro	Para uso diagnóstico in vitro	Para uso diagnóstico in vitro	Para uso diagnóstico in vitro
	Reagente e seu número de lote de reagente	Reagente e seu número de lote de reagente	Reagente e seu número de lote de reagente	Reagente e seu número de lote de reagente