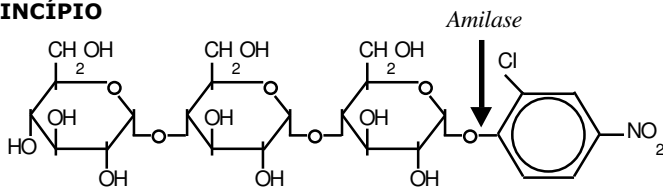


FINALIDADE

Sistema para determinação de α -Amilase no soro, plasma, urina e outros líquidos biológicos.

Somente para uso diagnóstico in vitro.

PRINCÍPIO



A α -Amilase hidrolisa o substrato α - (2-Cloro-4-Nitrofenil)- β -1,4-Galactopyranosylmaltoside (CNPG), liberando 2-Cloro-4-Nitrofenol (CNP) com a formação de compostos secundários, sem expressão na presente metodologia. A velocidade de liberação de 2-Cloro-4-Nitrofenol é diretamente proporcional à atividade enzimática. A razão de formação do 2-Cloro-4-Nitrofenol (CNP) pode ser detectada fotometricamente a 405nm, obtendo -se assim a medida direta da atividade da α -Amilase na amostra.

METODOLOGIA

Cinético de 02 pontos (CNPG).

REAGENTES

Substrato:

Tampão MES, pH 6, 100mmol/L

α -(2-Cloro-4-Nitrofenil)- β -1,4-Galactopyranosylmaltoside (CNPG) 2,25mmol/L

Cloreto de Sódio 350mmol/L

Acetato de Cálcio 6mmol/L

Sulfocianeto de Potássio 900 mmol/L

Azida sódica 15mmol/L

APRESENTAÇÃO

AMILASE CNPG Ref.30 (NOVA APRESENTAÇÃO)

Substrato 1 x 30mL

AMILASE CNPG Ref.60

Substrato 2 x 30mL

NÚMERO DE TESTES

AMILASE CNPG Ref.30

Manual 30 testes

Automação (*) 100 testes

AMILASE CNPG Ref.60

Manual 60 testes

Automação (*) 200 testes

(*) A quantidade de testes na automação é variável de acordo com o equipamento.

Protocolos de automação encontram-se disponíveis no site Doles ou através do Serviço de Atendimento ao Consumidor.

EQUIPAMENTOS E MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro com leituras em 405nm, cubeta termostaticável (37°C), com 10mm de passagem de luz e banda espectral de 8nm ou menos.
- Pipetas graduadas
- Pipeta semiautomática de 20 μ L.
- Ponteiros descartáveis
- Cronômetro

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Substrato: armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, se obedecidas as condições de armazenamento. **NÃO PIPETAR COM A BOCA.**

CUIDADOS E PRECAUÇÕES COM O USO DOS REAGENTES

O reagentes é somente para **uso diagnóstico in vitro**. Seu manuseio deve ser cuidadoso, evitando-se contato com pele e mucosas. Em caso de contaminação acidental, lavar a parte afetada em água corrente. O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se os critérios de biossegurança estabelecidos pelo laboratório, de acordo com as normas locais, estaduais ou federais.

Observar ainda a simbologia constante nos rótulos do produto:



Irritante

AMOSTRA

Soro, plasma (heparina), urina e líquidos ascítico e pleural. A enzima permanece estável no soro por 8 horas à temperatura de 20-30°C, e por 30 dias, à temperatura de 2-8°C. Todos anticoagulantes, com exceção da heparina inibem a atividade da amilase, por sequestrarem o cálcio necessário à otimização da atividade amilásica.

A amilase na urina permanece estável por 15 dias à temperatura ambiente (20-30°C). O volume coletado pode oscilar entre 1 e 24 horas, porém o tempo de coleta recomendado é de 2 horas. O volume urinário deve ser medido, pois a interpretação é baseada na quantidade de unidade de amilase excretada por hora.

Todas as amostras biológicas devem ser consideradas como potencialmente infectantes.

PROCEDIMENTO TÉCNICO

Realização do teste:

1. Transferir 1mL do substrato para um tubo de ensaio e deixá-lo por alguns minutos à temperatura de 37°C.
2. Adicionar 20 μ L da amostra ao substrato e homogeneizar com ligeira agitação.
3. Transferir a solução para cubeta termostaticada a 37°C (por aspiração em equipamentos dotados de cubeta de fluxo), comprimento de onda de 405nm.
4. Esperar 30 segundos.
5. Fazer a leitura inicial (A inicial) em absorvância, disparando simultaneamente o cronômetro. Anotar o achado.
6. Repetir a leitura (A final) 60 segundos após a primeira leitura.
7. Anotar o achado.

CÁLCULO

• Soro/plasma

Amilase U/L = (A final - A inicial) x 3953

Amilase U/L = ΔA /min teste x 3953

Exemplo:

Leitura inicial (A inicial) = 0,127

Leitura após 60 segundos (A final) = 0,149

Amilase U/L = (0,149 - 0,127) x 3953 = 87

• URINA

Amilase Urinária (U/h) = $\frac{\text{Amilase (U/L)} \times \text{vol. urina (mL)}}{1000 \times \text{tempo de coleta (h)}}$

Exemplo:

Volume urinário de 24 horas = 1.200mL

Amilase Urinária = 100 U/L

Amilase Urinária (U/h) = $\frac{100 \times 1200}{1000 \times 24} = 4,99$

Determinação do fator (F)

Amilase (atividade U./L) = $\frac{\Delta A}{\text{min}} \times \frac{1}{12,9} \times \frac{1,02}{0,02} \times 1000 = \Delta A \times 3953$

ΔA = diferença de leitura entre A final e A inicial;

12,9 = coeficiente de extinção mmolar de 2-Cloro-4-Nitrofenol em 405nm, cubeta 10mm passagem de luz, 37°C em tampão pH 6,0;

1,02mL = volume total da reação;

0,02mL = volume de soro;

1000 fator / transformação de mililitro em litro.



LINEARIDADE

A reação é linear até uma concentração, de 2.000 U/L. Sendo a concentração de α -Amilase na amostra ≥ 2.000 U/L diluir a amostra com solução fisiológica e repetir o teste. Multiplicar o valor encontrado pelo fator de diluição.

LIMITAÇÕES DO SISTEMA

- Para se obter ótimo desempenho do sistema, é necessário que o procedimento técnico seja rigorosamente seguido conforme instruções de uso. Alterações no procedimento técnico podem levar a resultados errôneos.
- A pipeta não deverá ser soprada, para evitar contaminação pela amilase salivar.
- A atividade da amilase apresenta valores falsamente elevados em pacientes no uso de colinérgicos, codeína, etanol, morfina, tetraciclina e, por vezes, anticoncepcionais orais.
- Não utilizar o reagente quando a absorvância do mesmo for superior 0,500 em 405nm contra um branco representado por água destilada.
- Aumento repentino na absorvância do reagente indica deterioração do substrato.
- Não utilizar o substrato se o mesmo estiver com aspecto turvo.
- Não utilizar amostras hemolisadas.
- O complexo de amilase com proteínas de elevado peso molecular (macroamilase) na amostra de soro, pode levar a resultados falsamente elevados.

CONTROLE DA QUALIDADE DO SISTEMA

1. A limpeza e a secagem adequada do material a ser utilizado são de fundamental importância para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
2. As pipetagens devem ser precisas.
3. O uso de soro controle de referência deve ser uma prática rotineira do laboratório. Recomenda-se utilizar um soro controle com valor na faixa de normalidade (**soro controle N - Doles**) e outro soro controle de valor elevado (**soro controle P - Doles**).

VALORES DE REFERÊNCIA

É recomendado que cada laboratório estabeleça sua própria faixa de valores de referência na população atendida.

Como orientação, sugerimos os seguintes valores:

Soro: 25- 125U/L

Urina: valores inferiores a 30U/hora

SIGNIFICADO CLÍNICO

A amilase sérica apresenta-se aumentada nas pancreatites agudas e crônicas. Pode ainda estar aumentada nas condições em que o paciente é portador de pseudo-cisto pancreático, perfuração intestinal com peritonite e patologias que comprometem as vias biliares.

Aumento da amilase sérica é encontrada ainda nas pacientes com quadro clínico de prenhez tubárica rota.

A dosagem da amilase sérica é utilizada no diagnóstico da parotidite epidêmica (caxumba) que ocorre principalmente em crianças.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Foram realizados 40 dosagens em amostras cujos níveis de Amilase situavam-se no intervalo de 26 a 1698U/L. As mesmas feitas em paralelo com o kit de Amilase CNPG Doles (Y) e um produto comercial com metodologia similar (X) deram origem à seguinte equação de regressão linear: $Y = 1,023X - 1,63$ sendo o coeficiente de correlação de 0,99.

Repetitividade: foram realizadas 20 dosagens sucessivas, com 2 amostras, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2
Concentração (U/L)	85,0	504,0
Desvio padrão	2,2	12,2
Coeficiente de variação (%)	2,6	2,4

Reprodutibilidade: foram realizadas 20 dosagens durante 20 dias consecutivos, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2
Concentração (U/L)	68,0	482,0
Desvio padrão (U/L)	2,2	15,2
Coeficiente de variação (%)	3,2	3,1

Especificidade: a presente metodologia é específica para determinação da Amilase sérica. Soluções proteicas isentas de amilase quando testadas pela presente metodologia resultaram em leituras cujas absorvâncias situavam-se entre zero e 0,002.

Sensibilidade: utilizando-se de um espectrofotômetro de alta resolução, cubetas 10mm de passagem de luz, 405nm e a 37°C a variação de 0,001entre a 1ª e 2ª leitura na absorvância corresponde a 3,9 U/L de α -Amilase.

Substâncias interferentes:

- Não utilizar amostras hemolisadas.
- Soros contendo níveis de triglicérides até 1.800mg/dL, não interferem na metodologia.
- Ver limitações do sistema.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- CNPG3 - Direct Amylase Reagent, Genzyme Diagnostics, 1996: 1 - 35
- Kaplan, L.A, Pesce, A.J., Clinical Chemistry, 3ªed, 555 - 567, 1996.
- Pagana K.D., Pagana T.J., Diagnostic and Laboratory Test Reference, 43-46, 1992.
- Anderson S.C., Cockayne S., Clinical Chemistry Concepts and Applications, 266-267, 1993.
- Burtis, C.A, Ashwood, E.D., Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2ªed., 852-863, 1994.
- Jacobs D.S., Demott W.R., Grady H.J., Hovart R.T., Huests D.W., Kasten B.L., Laboratory Test Handbook, 79-80, 4ªed., 1994.
- Tibúrcio, H.M.: *Controle interno da qualidade analítica*, 1ªed. março/1995.
- Doles: dados de arquivo.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

As garantias do fabricante ao consumidor seguem estritamente as relacionadas na Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1.990 - **Código de Defesa do Consumidor**.

Todos os reagentes que compõem este sistema para diagnóstico são garantidos na sua performance, reprodutibilidade e qualidade até a data de vencimento dos mesmos, se obedecidas as condições abaixo:

1. O usuário do sistema seguir, rigorosamente, o procedimento técnico.
2. As condições de armazenamento deverão estar de acordo com o estabelecido nas instruções de uso.
3. Os materiais necessários e não fornecidos deverão estar em boas condições técnicas.

Todos os produtos que apresentarem problemas técnicos comprovados serão substituídos, sem ônus para o consumidor.

Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda.

CNPJ: 01.085.513/0001-05

Rodovia BR 153, Km 1273, Lt.07, Chácara Retiro

CEP: 74001-970 Goiânia - GO - Brasil

Caixa Postal 1051

e-mail: doles@doles.com.br

M.S.: nº 10231810071

Revisão: 17 (06/2009)

NBR ISO 9001

Sistema da Qualidade
certificado desde 1999

