

Amilase

Kit para determinação da amilase por metodologia cinética-colorimétrica.

REF. 311

MS 80022230145



MÉTODO

Cinético-Colorimétrico (Caraway modificado).

FINALIDADE

Reagentes para a determinação da atividade enzimática da amilase em amostras de soro, plasma, urina e outros líquidos biológicos. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO

A amilase hidrolisa o amido liberando moléculas de açúcares e dextrina. Após a adição da solução de iodo ocorre a formação de cor azul com o amido não hidrolisado do substrato.

Nesta técnica, a atividade da amilase é inversamente proporcional à intensidade da cor azul formada e é calculada em comparação com um controle de substrato.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A amilase é uma hidrolase normalmente secretada pelas células acinares do pâncreas para o ducto pancreático e deste para o duodeno. No intestino, a amilase hidrolisa os carboidratos em seus componentes, os açúcares. Quando ocorre uma lesão das células acinares como na pancreatite ou ocorrendo uma obstrução no fluxo do ducto pancreático como no carcinoma pancreático, a amilase flui para o sistema linfático intrapancreático e peritoneo e, por drenagem, atingirá os vasos sanguíneos em concentração elevada.

A amilase alcançará um aumento anormal dentro de 12 a 24 horas após o início da doença, sendo rapidamente clareada pelos rins atingindo os níveis normais em 48 a 72 horas. Nos casos de pancreatite persistente, obstrução dos ductos pancreáticos e pseudocisto pancreático, os níveis de amilase no soro estarão persistentemente aumentados.

Muito embora a dosagem da amilase seja um teste sensível para diagnóstico de doenças pancreáticas, ela não é específica. Outras doenças não pancreáticas podem elevar os níveis de amilase no soro como na perfuração do intestino, na úlcera péptica penetrante para o pâncreas, na obstrução duodenal e nas parotidites (caxumba) devido à amilase salivar. Casos de cetoacidose diabética e de gravidez ectópica podem apresentar também níveis altos de amilase no soro.

A determinação da amilase na urina, assim como a dosagem no soro, também não é específica para as doenças pancreáticas. Outras doenças tais como parotidite (caxumba), colecistite, perfuração de intestino, úlcera péptica penetrante, gravidez ectópica e infarto renal podem apresentar amilase urinária elevada. Contudo, nas pancreatites a taxa de amilase na urina estará sempre elevada.

Algumas drogas como etanol, narcóticos e colinérgicos aumentam a amilase por efeito fisiológico. Outras como citrato, oxalato e fluoreto diminuem a amilase por interferência química.

Para um diagnóstico mais seguro de pancreatite é importante, juntamente com a dosagem da amilase sérica e urinária, determinar a Relação entre o Clareamento da Amilase e o Clareamento da Creatinina. Quando esta relação for igual a 5% ou mais, o diagnóstico de pancreatite pode ser feito com segurança. Quando for menor do que 5% em um paciente apresentando níveis elevados de amilase no soro e na urina, indica uma condição patológica não pancreática (macroamilasemia, perfuração de intestino, etc).

QUALIFICAÇÕES DO PRODUTO

- Metodologia cinética de tempo fixo, simples, rápida para dosagem da amilase nos diversos tipos de líquidos biológicos.
- O Substrato utilizado contém um conservante potente para impedir a contaminação bacteriana ou fúngica e propicia excelentes condições para a ação da atividade da enzima.
- A metodologia permite obter resultados precisos e exatos se for executada conforme descrito na Instrução de Uso.

IDENTIFICAÇÃO DOS REAGENTES

Conservar em temperatura entre 2- 8 °C.

1. **Substrato** - Contém amido solúvel 0,4 g/L em tampão fosfato pH 7,0.

2. **Iodo-Estoque** - Contém iodato de potássio 16,7 mmol/L, iodeto de potássio 271 mmol/L e ácido clorídrico 112 mmol/L.

ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até o vencimento da data de validade impressa no rótulo do produto e na caixa quando conservados na temperatura recomendada, bem vedados e se for evitada a contaminação durante o uso.

Sinais de Deterioração dos Reagentes

Uma diminuição no valor da absorbância do tubo Controle acima de 10% indica contaminação do Substrato (1) com saliva.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro;
- Tubos e pipetas;
- Banho-maria ou termostator na temperatura constante de 37 °C;
- Cronômetro.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes e amostra biológica.
- Recomendamos o uso 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.
- O Iodo-Estoque contém ácido clorídrico que é uma substância irritante.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.

Atenção

Saliva e suor contém amilase.

Para evitar possível contaminação não pipetar com a boca, não soprar pipetas e evitar o contato do reagente e pipetas com a pele.

AMOSTRA

SORO, PLASMA (heparina), URINA e outros LÍQUIDOS BIOLÓGICOS (pleural, duodenal e ascítico).

A enzima no soro ou plasma é estável por um mês entre 2-8 °C.

Na urina, a estabilidade é também de um mês, desde que o pH seja ajustado para 7,0. Não usar amostras com sinais de contaminação bacteriana.

Urina

Coletar a amostra com intervalos determinados de 2 ou até 24 horas.

As amostras de urina devem ser armazenadas entre 2-8 °C.

Não adicionar conservante.

Nota

Recomendamos que a coleta, preparação, armazenamento e descarte das amostras biológicas sejam realizadas seguindo as recomendações das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Enfatizamos que os erros provenientes da amostra podem ser muito maiores do que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

INTERFERÊNCIAS

A bilirrubina até 5 mg/dL, lipemia (triglicérides até de 250 mg/dL) e hemólise (hemoglobina até 30 mg/dL) não produzem interferências significativas. Amostras com valores acima desses citados produzem resultados falsamente diminuídos.

Valores falsamente elevados de amilase no soro com amilase urinária normal podem ocorrer pela presença da macroamilase no sangue.

A macroamilase resulta da complexação da amilase do soro com proteínas de alto peso molecular.

PROCEDIMENTO DO TESTE

Preparo da Solução Iodo de Uso

Ver Observações 1, 2 e 3.

Transferir quantitativamente o conteúdo da ampola do Iodo-Estoque (2) para o frasco vazio fornecido no kit.

Adicionar 45 mL de água destilada ou deionizada.

Homogeneizar e manter o frasco sempre bem vedado.

Estável por 6 meses entre 2-8 °C. Registrar a validade no rótulo.

Para evitar perdas de iodo, o frasco deve ser mantido sempre bem tampado e ser aberto o mínimo possível.

A. Condições de Reação

- Leitura: Comprimento de onda 660 nm (620 a 700)
- Medida: Contra água destilada ou deionizada
- Tipo de Reação: Cinética de tempo fixo

B. Técnica de Análise

Dosagem no Soro ou Plasma

1. Identificar dois tubos de ensaio como Teste e Controle e proceder:

Tubos	Controle	Teste
Substrato (1)	500 µL	500 µL

2. Incubar a 37 °C por 2 minutos.

Soro	-----	10 µL
------	-------	-------

3. Homogeneizar e incubar a 37 °C por exatamente 7 minutos e 30 segundos.

CRONOMETRAR:

Iodo de Uso	500 µL	500 µL
Água Deionizada	4,0 mL	4,0 mL

4. Homogeneizar e esperar 5 minutos.

5. Fazer a leituras fotométricas do Teste e Controle em 660 nm ou filtro vermelho (620 a 700), acertando o Zero com água deionizada.

6. A cor é estável por 30 minutos.

Cálculos A_C = Absorbância do controle A_T = Absorbância do Teste

$$\text{Unidades de Amilase / dL} = \frac{A_C - A_T}{A_C} \times 800$$

Exemplo

Unidades de Amilase/dL = U/dL

 A_C = Absorbância do controle = 0,456 A_T = Absorbância do teste = 0,377

$$U/dL = \frac{0,456 - 0,377}{0,456} \times 800 = 139 \text{ Unidades / dL}$$

Dosagem na Urina**A. Coleta e preparo da amostra**

Instruir o paciente para coletar corretamente a urina no período de tempo estipulado pelo médico.

Geralmente, utiliza-se a urina coletada em um determinado número de horas. Exemplo: urina de 2 horas.

Homogeneizar, medir e anotar o volume urinário em mL.

Anotar também o tempo de coleta da amostra.

Medir o pH da urina e ajustá-lo entre 7,0 a 7,4 do seguinte modo:

1- Urina ácida: adicionar carbonato de sódio (Na_2CO_3).2- Urina alcalina: adicionar fosfato biácido de sódio ou potássio (NaH_2PO_4 ou KH_2PO_4).**B. Dosagem e cálculos**

Seguir o mesmo procedimento técnico e cálculos do soro/plasma.

Calcular o resultado em Unidades de Amilase/hora (U/h).

Unidades de Amilase Urinária/hora = U/h

Amilase Urinária (U/h) = (Amilase U/dL x V) ÷ (H x 100)

V = volume da urina em mL

H = número de horas em que foi coletada a urina

Exemplo

Se Amilase urinária (valor encontrado na dosagem) = 86 U/dL

Se V = Volume da urina em mL = 1320 mL

Se H = n° de horas em que foi coletada a urina = 24 h

Amilase Urinária (U/h) = (86 x 1320) ÷ (24 x 100) = 47 U/h

Relação Amilase/Creatinina na Urina (U/g)

U/g = (Amilase U/dL x 1000) ÷ (Creatinina mg/dL)

Dosagem em outros Líquidos Biológicos

Seguir o mesmo procedimento do soro/plasma.

Verificar a necessidade de diluição da amostra.

RELAÇÃO CLAREAMENTO AMILASE / CLAREAMENTO CREATININA

Na maioria dos casos de pancreatite aguda ocorrem elevações concomitantes da amilase sérica e urinária, mas em certos casos, a elevação da amilase urinária não é acompanhada por uma elevação paralela da amilase sérica.

Portanto, a relação entre a depuração ou clareamento da amilase e a depuração ou clareamento da creatinina, expressa em porcentagem, proporciona maior valor diagnóstico nos casos de pancreatite aguda e pancreatite recorrente.

Para calcular essa relação, determinar a atividade da amilase e a concentração da creatinina nas amostras de soro e urina analisadas e aplicar os resultados na seguinte fórmula:

$$\text{Relação (\%)} = \frac{AmU (U/dL) \times CrS (mg/dL)}{AmS (U/dL) \times CrU (mg/dL)} \times 100$$

AmU = Amilase na Urina em U/dL

AmS = Amilase no Soro em U/dL

CrS = Creatinina no Soro em mg/dL

CrU = Creatinina na Urina em mg/dL

VALORES DE REFERÊNCIA**Soro ou Plasma:** 60 a 160 U/dL**Urina:** 50 a 140 U/h**Relação Amilase/Creatinina na Urina:** até 400 U/g**Relação clareamento amilase/clareamento creatinina:** 1,0 a 4,0%

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

CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório clínico deve manter um Programa de Garantia da Qualidade para assegurar que todos os procedimentos laboratoriais sejam realizados de acordo com as Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Para controle e verificação do desempenho do kit podem ser utilizadas amostras controle com valores estabelecidos pelos fabricantes.

É importante que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores médios e os respectivos limites de variação.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO⁸**Linearidade**

A reação é linear até 400 U/dL. Para valores maiores, diluir a amostra com solução de NaCl a 0,9 g% e realizar uma nova determinação. Multiplicar o valor obtido pelo fator de diluição empregado.

Repetitividade

A imprecisão intra-ensaio foi calculada com 20 determinações sucessivas de amilase, utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes.

As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 4,9 e 3,2%.

Reprodutibilidade

A imprecisão inter-ensaio foi calculada com 20 determinações de amilase em dias diferentes, utilizando 2 amostras de soro com concentrações diferentes.

As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 9,7 e 6,8%.

OBSERVAÇÕES

1. 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.
2. Na limpeza da vidraria pode-se empregar um detergente neutro ou uma solução ácida. A última lavagem deve ser feita com água destilada ou deionizada.
3. 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.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Annino JS. Clinical Chemistry. Principles and Procedures, 4ª ed. Little, Brown and Company.
2. Caraway WT. Am J Clin Path 1959; 32: 97.
3. Henry, R.J.; Clin. Chem. 6, 434, 1960.
4. Henry, R.J.: Clinical Chemistry - Principles and Technics, 2ª ed. Harper and Row, 1974.
5. Lopes HJJ. Enzimas no Laboratório Clínico - Aplicações Diagnósticas. Belo Horizonte - Analisa Diagnóstica, 2000.
6. Mendes MQ, Lopes HJJ. Atualização em Bioquímica Clínica: Técnicas, Fundamentos e Interpretação de Resultados. Belo Horizonte, MAI Editora, 1973: 39-41.
7. Mota VT. Bioquímica Clínica: Métodos e Interpretações. Porto Alegre, Ed. Médica Missau. 1999: 147-152.
8. GOLD ANALISA: Informe Técnico do Produto.

APRESENTAÇÃO

REF.	Reagente	Volume
311	Substrato	1 x 50 mL
	Iodo-Estoque	1 x 5 mL

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO**Lei nº 8.078 de 11-9-90 - Código de Defesa do Consumidor**

A Gold Analisa garante a substituição, sem ônus para o consumidor, de todos os produtos que comprovadamente apresentarem problemas técnicos, desde que o usuário utilize equipamentos e materiais em boas condições técnicas, siga rigorosamente o procedimento técnico e as recomendações estabelecidas nas Instruções de Uso.

Nº do lote e data de validade: Vide Rótulos do Produto

Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16

AF MS Nº 800222-3 - Reg. MS - Nº 80022230145

Farm. Resp. José Gilmar Pereira Berto - CRF-MG 13421









Av. Nossa Senhora de Fátima, 2363 - Carlos Prates - Fone: (31) 3272-1888

Belo Horizonte MG Brasil CEP: 30710-020

Home page: www.goldanalisa.com.br

E-mail: goldanalisa@goldanalisa.com.br

Setor de Apoio ao Cliente (SAC): 0800 703 1888**Analisa é marca registrada da Gold Analisa Diagnóstica Ltda****SIMBOLOGIA**

	Número do catálogo		Limite de temperatura
	Número do lote		Quantidade de testes
	Produto para diagnóstico <i>in vitro</i>		Consultar as instruções de uso
	Data limite de utilização		Fabricado por

Revisão: 01/18