

Bioclin

AMILASE G7 IFCC

REF K242

INSTRUÇÕES DE USO

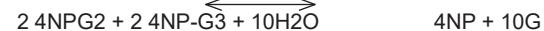
FINALIDADE

Teste para determinação atividade de Alfa - Amilase em amostras biológicas (soro, plasma heparinado ou urina), através de teste cinético. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Cinética IFCC

A Alfa-Amilase cliva o substrato 4 – Etidileno-NP-G7 (4NP-G7) em oligossacarídeos livres (G5, G4 e G3); e 4NP-G5, 4NGP-4 e 4NP-G3. Os fragmentos NP e G5, G4 e G3 são hidrolisados pela ação combinada de amilase e Alfa-Glicosidase, produzindo Glicose e p-Nitrofenol (NP) livre, que leva a um aumento de absorbância. A velocidade de formação de NP é proporcional à atividade de alfa-amilase total presente na amostra.



REAGENTES

Número 1 – Tampão Enzimático - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Tampão > 10 mmol/L, Cloreto de Sódio > 70 mmol/L, Cloreto de Magnésio > 1 mmol/L, Alfa Glicosidase < 50 KU/L, surfactante e estabilizante.

Número 2 - Substrato - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Tampão > 10 mmol/L, 4 – Etidileno-NP-G7 < 10 mmol/L, surfactante e conservante.

APRESENTAÇÃO

Apresentação	Reagente N° 1	Reagente N° 2
1	1 x 40 mL	1 x 10 mL
2	2 x 20 mL	2 x 5 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Espectrofotômetro termostaticado, pipetas, relógio ou cronômetro, tubos de ensaio, Biocontrol N, Biocontrol P Bioclin e Biocal Bioclin.

Esses itens são encontrados no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8 °C. O transporte em temperaturas até 30 °C não deverá exceder 5 dias.

Mantê-lo ao abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

CUIDADOS ESPECIAIS

1-Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

2-Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.

3-A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.

4-Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados.

5-Hemólise visível pode ser causa de ligeiras variações nos resultados.

6-Os Reagentes N° 1 e 2 são facilmente contaminados por saliva. Portanto, recomendamos a utilização de máscaras, peras e pipetas automáticas durante o manuseio deste produto.

7-Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.

8-Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site www.bioclin.com.br ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

9-Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.

10-É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

AMOSTRAS

Soro obtido livre de hemólise, plasma colhido com heparina. Outros anticoagulantes (EDTA, Citrato, Oxalato) inibem a atividade da alfa amilase. Estável por 7 dias entre 15 e 30 °C, 2 meses entre 2 e 8 °C e 1 ano a -20 °C.

Urina: estável por 2 dias entre 15 e 30 °C, 10 dias entre 2 e 8 °C e 3 semanas a -20 °C.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

A estabilidade de calibração do kit Amilase G7 IFCC instalado em equipamento com refrigeração é de pelo menos 10 dias. Esta estabilidade pode variar de acordo com as condições do reagente, do equipamento e do ambiente. Portanto, sugere-se acompanhar o desempenho do produto utilizando soros controles.

PREPARO DO REAGENTE DE TRABALHO

Misturar quatro (4) partes do Reagente N° 1 com uma (1) parte do Reagente N° 2. O reagente de trabalho é estável durante 14 dias, entre 2 e 8 °C. Armazenar ao abrigo da luz.

CONDIÇÕES DE REAÇÃO

É condição indispensável o uso de cubeta termostaticada a 37 °C, caminho óptico de 1cm e leitura em 405 nm.

TÉCNICA

A Bioclin recomenda, para uso do produto, utilizar como soro controle os kits Biocontrol N e P Bioclin.

Adicionar 20 µL de Amostra a 1,0 mL do Reagente de Trabalho, homogeneizar e transferir para cubeta termostaticada a 37 °C. Esperar 2 minutos. Fazer a leitura inicial, disparando simultaneamente o cronômetro. Repetir as leituras após 1, 2 e 3 minutos. Usar a mesma técnica para determinar o branco da reação, utilizando água como amostra.

Calcular a média das diferenças de absorbância por minuto (Abs/min.) e utilizá-la para cálculo do resultado.

CÁLCULOS

Soro ou Plasma

Com Fator

Abs/min. = Média(Abs/min Amostra) - Média (Abs/min Água)

Atividade da Alfa Amilase (U/L) = Abs/min x Fator

Fator 5.040

Com Calibrador

Atividade da Alfa Amilase (U/L) =

$\frac{\text{Média (Abs/min Amostra)} - \text{Média (Abs/min Água)}}{\text{Média (Abs/min Calibrador)} - \text{Média (Abs/min Água)}} \times \text{Conc. Cal}$

Conc. Cal = Concentração do Calibrador em U/L

Urina

Com Fator

Abs/min. = Média(Abs/min Amostra) - Média (Abs/min Água)

Atividade da Alfa Amilase (U/L) = Abs/min x Fator

Fator 10.080

Com Calibrador

Atividade da Alfa Amilase (U/L) =

$\frac{\text{Média (Abs/min Amostra)} - \text{Média (Abs/min Água)}}{\text{Média (Abs/min Calibrador)} - \text{Média (Abs/min Água)}} \times \text{Conc. Cal}$

Conc. Cal = Concentração do Calibrador em U/L

Amilase Urinária (U/h) = $\frac{\text{Amilase U/L} \times \text{V}}{\text{H} \times 1000}$

V = Volume Urinário em mL

H = Número de horas da coleta urinária

Exemplo:

Amilase Urinária (valor encontrado na dosagem) = 90 U/L

V = 200 mL

H = 2

Amilase Urinária (U/h) = $(90 \times 200) / (2 \times 1000) = 9 \text{ U/h}$

Relação de depuração da amilase/depuração de creatinina

A avaliação da relação de depuração da Amilase/depuração de Creatinina é importante para determinação do diagnóstico da pancreatite aguda. Para determinação da relação de depuração (Amilase/Creatinina) do paciente, deve-se determinar a atividade de amilase e a concentração de creatinina no soro e em uma amostra de urina.

Assim temos:

Relação (%) =

$\frac{\text{Amilase na Urina (U/L)} \times \text{Creatinina no Soro (mg/dL)} \times 100}{\text{Amilase no Soro (U/L)} \times \text{Creatinina na Urina (mg/dL)}}$

Para uma variação média na absorbância a 405 nm maior que 0,25, repetir a determinação, diluindo a amostra com NaCl 0,85%.

Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição. Para conversão dos dados no Sistema Internacional (SI), multiplicar o resultado: U/L X 0,01667 = µkat/L.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

As especificações abaixo referem-se a equipamentos semiautomáticos:

O método cinético baseia-se na absorvidade molar, por essa razão, as leituras devem ser realizadas em um espectrofotômetro que cumpra as seguintes condições: Comprimento de onda 405 nm Semi trajetória da banda de passagem 10 nm Luz espúria menor que 0,5% Cubeta de 1cm termostaticada

INTERFERENTES

A saliva contém Amilase. Portanto, não deve-se pipetar com a boca e evitar o conversas onde este teste está sendo realizado. Utilizar máscara durante todo o ensaio. A lipemia (Triglicérides até 1000 mg/dL) e a Bilirrubina (até 50 mg/dL) não interferem com a metodologia. Hemoglobina até 600 mg/dL e Ácido Ascórbico até 45 mg/dL não interferem nos resultados. Algumas drogas podem interferir nos resultados laboratoriais elevando os níveis séricos da Amilase (morfina, meperidina, codeína, diuréticos tiazídicos) ou diminuindo, como nos casos de envenenamento por barbitúricos.

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

O Laboratório Clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, onde procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente estabelecidos. É importante ressaltar que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica característica, que deve ser monitorada pelos próprios laboratórios. Para tanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens.

RASTREABILIDADE

A calibração do kit pode ser feita utilizando o fator de calibração teórico, baseado na absorvidade molar do 4 – Etidileno-NP-G7, ou através do calibrador BIOCAL. A Bioclin recomenda o uso do calibrador BIOCAL, que é rastreável ao método de Referência descrito na IFCC: SCHUMANN, G., et al. "IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C: International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC): Scientific Division, Committee on Reference Systems for Enzymes (C-RSE): Part 8. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of α -amylase: [α -Amylase: 1,4- α -D-glucan 4-glucanohydrolase (AMY), EC 3.2.1.1]". Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM), vol. 44, no 9, janeiro de 2006.

VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores de referência em U/L para o presente método foram obtidos através da determinação da α -Amilase em populações sadias do sexo masculino e feminino em várias faixas etárias.

Soro ou plasma (todas as idades) Homens e Mulheres - 28 a 100 U/L

Urina: Homens < 491 U/L e Mulheres < 447 U/L

Relação da depuração da amilase / depuração da creatinina: 1,0 a 4,0%

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida. Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida. Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

DESEMPENHO DO PRODUTO

EXATIDÃO

Comparação de Métodos

O kit Amilase G7 IFCC foi comparado com outro método para dosagem de Amilase, comercialmente disponível. Foram realizadas 40 análises e os resultados foram avaliados. A equação linear obtida foi $Y = 0,9138X - 3,3580$, com coeficiente de correlação linear igual a 1,000. Com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

PRECISÃO

Repetibilidade

A repetibilidade foi calculada a partir de 10 repetições de 3 amostras de concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

Repetibilidade	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (U/L)	312	751	1467
Desvio Padrão (U/L)	2,3	3,9	12,8
Coefficiente de Variação (%)	0,74	0,52	0,88

Reprodutibilidade

A Reprodutibilidade foi calculada a partir da análise de 3 amostras de diferentes níveis durante 15 dias, não necessariamente consecutivos, totalizando 60 determinações para cada amostra, obtendo-se os seguintes resultados:

Reprodutibilidade	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (U/L)	156	378	753
Desvio Padrão (U/L)	2,7	6,0	9,9
Coefficiente de Variação (%)	1,72	1,59	1,32

SENSIBILIDADE

A sensibilidade foi calculada a partir de 40 determinações de uma amostra isenta da presença de amilase. O desvio padrão foi de 1,73 U/L. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde a 3 vezes o desvio padrão 5,2 U/L.

LINEARIDADE

A reação é linear até a atividade de 2000 U/L. Para amostras com valores superiores a este, repetir a determinação, diluindo a amostra com NaCl 0,85%. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição. Por exemplo, se a amostra for diluída 1:10 e o resultado obtido for 80 U/L, deve-se multiplicar por 10 (80 x 10) U/L e considerar como resultado final o valor de atividade de 800 U/L.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

A Amilase, predominantemente de origem pancreática e salivar, está normalmente presente no sangue e na urina em pequenas quantidades. Eleva-se rapidamente no plasma após o início dos sintomas de pancreatite aguda, onde paralelamente observa-se um aumento da Amilase urinária. Valores aumentados são observados também no infarto mesentérico, úlcera gástrica perfurada, carcinoma de cabeça do pâncreas, caxumba, insuficiência renal, acidose diabética. Níveis plasmáticos diminuídos são observados na hepatite, cirrose hepática, toxemia de gravidez, eclampsia, carcinoma pancreático.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1-SCHUMANN, G., et al. "IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C: International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC): Scientific Division, Committee on Reference Systems for Enzymes (C-RSE): Part 8. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of α -amylase: [α -Amylase: 1,4- α -Dglucan 4-glucanohydrolase (AMY), EC 3.2.1.1]". Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM), vol. 44, no 9, janeiro de 2006. DOI.org (Crossref), doi:10.1515/CCLM.2006.212.

2-WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31

3-ELLIS S. Benson M.D. & D. B. Tonks PH.D. (1963) Laboratory medicine, Postgraduate Medicine, 34:4, A-58-A-70, DOI: 10.1080/00325481.1963.11694890

4-QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento

GARANTIA DA QUALIDADE

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes Bioclin são testados pelo Departamento de Controle 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 adequadas.

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca

CEP 31565-130 - Belo Horizonte/MG - Brasil

Tel.: (31) 3439 5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br

CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente

Tel.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de Registro do kit Amilase G7 IFCC ANVISA:10269360336

Revisão: Junho/2022

SIMBOLOGIA UNIVERSAL

	NÚMERO DE CATÁLOGO		FABRICADO POR
	NÚMERO DO LOTE		CONTROLE
	DATA DE FABRICAÇÃO		CONTROLE POSITIVO
	DATA DE VALIDADE (último dia do mês)		CONTROLE NEGATIVO
	LIMITE DE TEMPERATURA (conservar a)		RISCO BIOLÓGICO
	Q CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTE		INFLÂMÁVEL
	CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO		CORROSIVO
	PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DA LUZ E CALOR		NÃO UTILIZAR SE A EMBALAGEM ESTIVER DANIFICADA
	NÃO REUTILIZE		PRODUTO ESTERILIZADO
	CUIDADO		PERIGO

AMILASA G7 IFCC

REF K242

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

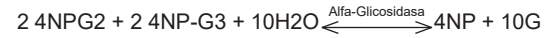
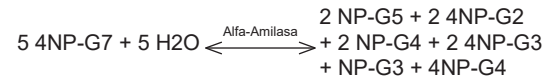
Prueba para determinar la actividad Alfa - Amilasa en muestras biológicas (suero o plasma), mediante prueba cinética. Solo para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Cinética IFCC

La Alfa-Amilasa escinde el sustrato 4 - Etilileno - NP-G7 (4NP-G7) en oligosacáridos libres (G5, G4 y G3); y 4NP-G5, 4NGP-4 y 4NP-G3.

Los fragmentos NP y G5, G4 y G3 son hidrolizados por la acción combinada de amilasa y Alfa-Glicosidasa, produciendo Glucosa y pNitrofenol (NP) libre, lo que conduce a un aumento de la absorbancia. La tasa de formación de NP es proporcional a la actividad alfaamilasa total presente en la muestra.



4NP - Nitrofenol

G - Glucose

REACTIVOS

Número 1 - Tampón Enzimático - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Tampón > 10 mmol/L, Cloruro de Sodio > 70 mmol/L, Cloruro de Magnesio > 1 mmol/L, Alfa Glicosidasa < 50 KU/L, surfactante y estabilizador.

Número 2 - Sustrato - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Tampón > 10 mmol/L, 4 - Etilileno-NP-G7 < 10 mmol/L, surfactante y conservante.

PRESENTACIÓN

Presentación	Reactivo 1	Reactivo 2
1	1 x 40 mL	1 x 10 mL
2	2 x 20 mL	2 x 5 mL

EQUIPAMIENTOS E INSUMOS OPERACIONALES

Espectrofotómetro termostático, pipetas, reloj o cronómetro, probetas, Biocontrol N, Biocontrol P Bioclin y Biocal Bioclin. Estos artículos se encuentran en el mercado especializado de artículos para Laboratorios de Análisis Clínicos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento debe ser de 2 a 8 °C. El transporte a temperaturas de hasta 30 °C no debe exceder los 5 días.

Mantener alejado de la luz y evitar la humedad. **No congelar**

CUIDADOS ESPECIALES

1-Solo para uso de diagnóstico *in vitro*.

2-Seguir estrictamente la metodología propuesta para obtener resultados exactos.

3-El agua utilizada para limpiar el material debe ser fresca y libre de contaminantes.

4-Las columnas desionizantes saturadas liberan agua alcalina, varios iones y agentes oxidantes y reductores, que pueden alterar significativamente los resultados.

5-La hemólisis visible puede provocar ligeras variaciones en los resultados.

6-El Reactivos N° 1 e 2 se contaminan fácilmente con la saliva. Por ello, recomendamos el uso de mascarillas, peras y pipetas automáticas al manipular este producto.

7-Recomendamos aplicar las normas de protección ambiental locales, estatales y federales para que la eliminación de reactivos y material biológico se realice de acuerdo con la legislación vigente.

8-Para obtener información relacionada con la bioseguridad o en caso de accidentes con el producto, consulte la MSDS (Ficha de Información de Seguridad Química) disponible en el sitio web www.bioclin.com.br o a solicitud del SAC (Servicio de Químicos) Atención al Cliente) de Quibasa.

9-No utilice el producto en caso de daños en el embalaje.

10-Es fundamental que los instrumentos y equipos utilizados estén debidamente calibrados y sometidos a un mantenimiento periódico.

MUESTRAS

Suero obtenido libre de hemólisis, plasma recogido con heparina. Otros anticoagulantes (EDTA, Citrato, Oxalato) inhiben la actividad de la alfa amilasa. Estable durante 7 días entre 15 y 30 °C, 2 meses entre 2 y 8 °C y 1 año a -20 °C.

Orina: estable durante 2 días entre 15 y 30 °C, 10 días entre 2 y 8 °C y 3 semanas entre -20 °C.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

La estabilidad de calibración del kit Amilasa G7 IFCC instalado en equipos refrigerados es de al menos 10 días. Esta estabilidad puede variar según las condiciones del reactivo, el equipo y el entorno. Por lo tanto, se sugiere monitorear el desempeño del producto usando sueros de control.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS DE TRABAJO

Mezcle cuatro (4) partes de Reactivo N° 1 con una (1) parte de Reactivo N° 2. El reactivo de trabajo es estable por 14 días entre 2 y 8 °C. Almacenar lejos de la luz.

CONDICIONES DE REACCION

Es imprescindible utilizar una celda termostatzada a 37 °C, un camino óptico de 1 cm y lectura a 405 nm.

TÉCNICA

Bioclin recomienda, para el uso del producto, utilizar los kits Biocontrol N y P Bioclin como suero de control.

Agregue 20 µL de Muestra a 1,0 mL del Reactivo de Trabajo, mezcle y transfiera a una celda termostatzada a 37 °C y espere 2 minutos.

Tome la lectura inicial, activando simultáneamente el cronómetro. Repita las lecturas después de 1, 2 y 3 minutos. Utilice la misma técnica para determinar el blanco de reacción, utilizando agua como muestra. Calcule el promedio de las diferencias de absorbancia por minuto (Abs/min.) y utilícelo para calcular el resultado.

CALCULOS

Suero o Plasma

Con factor

Abs/min. = Media (Abs/min Muestra) - Media (Abs/min Agua)

Actividad de Alfa Amilasa (U/L) = Abs/min x Factor

Factor 5.040

Con calibrador

Actividad de Alfa Amilasa (U/L) =

$\frac{\text{Media (Abs/min Muestra)} - \text{Media (Abs/min Agua)}}{\text{Media (Abs/min Calibrador)} - \text{Media (Abs/min Agua)}}$ x Conc. Cal

Conc. Cal = Concentración del Calibrador en U/L

Orina

Con factor

Abs/min. = Media (Abs/min Muestra) - Media (Abs/min Agua)

Actividad de Alfa Amilasa (U/L) = Abs/min x factor

Factorizar 10.080

Con Calibrador

Actividad de alfa amilasa (U/L) =

$\frac{\text{Media (Abs/min Muestra)} - \text{Media (Abs/min Agua)}}{\text{Media (Abs/min Calibrador)} - \text{Media (Abs/min Agua)}}$ x Conc. Cal

Conc. Cal = Concentración del Calibrador en U/L

Amilasa Urinaria (U/h) = $\frac{\text{Amilasa U/L} \times \text{V}}{\text{H} \times 1000}$

V = Volumen Urinario en mL

H = Número de horas de recogida de orina

Ejemplo:

Amilasa Urinaria (valor encontrado en la dosis) = 90 U/L

V = 200 mL

H = 2

Amilasa Urinaria (U/h) = $\frac{90 \times 200}{2 \times 1000} = 9 \text{ U/h}$

Relación aclaramiento de amilasa/aclaramiento de creatinina

La evaluación del cociente aclaramiento de Amilasa/aclaramiento de Creatinina es importante para determinar el diagnóstico de pancreatitis aguda. Para determinar la relación de aclaramiento del paciente (Amilasa/ Creatinina), la actividad de amilasa y la concentración de creatinina en suero y en una muestra de orina.

Entonces tenemos:

Proporción (%) =

$\frac{\text{Amilasa en Orina (U/L)} \times \text{Creatinina Sérica (mg/dL)} \times 100}{\text{Amilasa Sérica (U/L)} \times \text{Creatinina en Orina (mg/dL)}}$

Para un cambio promedio en la absorbancia a 405 nm mayor que 0,25, repita la determinación, diluyendo la muestra con NaCl al 0,85%.

Multiplica el resultado obtenido por el factor de dilución. Para la conversión de datos en el Sistema Internacional (SI), multiplique el resultado: U/L X 0.01667 = µkat/L.

LIMITACIONES DEL PROCESO

Las especificaciones siguientes se refieren a equipos semiautomáticos:

El método cinético se basa en la absortividad molar, por esta razón, las lecturas deben realizarse en un espectrofotómetro que cumpla con las siguientes condiciones:

Longitud de onda 405 nm

Semi-camino de la banda de paso de 10 nm

Luz espuria menos del 0,5%

Cubo termostático de 1cm

INTERFERENTE

La saliva contiene amilasa. Por lo tanto, no debe pipetear con la boca y evitar el contacto del reactivo con la piel. La lipemia (triglicéridos hasta 1000 mg/dL) y Bilirrubina (hasta 50 mg/dL) no interfieren con la metodología. La Hemoglobina hasta 600 mg/dL y el Ácido Ascórbico hasta 45 mg/dL no interfieren con los resultados. Algunos fármacos pueden interferir con los resultados de laboratorio aumentando los niveles de amilasa sérica (morfina, meperidina, codeína, diuréticos tiazídicos) o disminuyéndolos, como en los casos de intoxicación por barbitúricos.

CONTROL DE CALIDAD INTERNO

El Laboratorio Clínico debe contar con un programa de control de calidad interno, donde se establezcan claramente los procedimientos, estándares, límites y tolerancia a variaciones. Es importante señalar que todos los sistemas de medición tienen una variabilidad analítica característica, que debe ser monitoreada por los propios laboratorios. Para eso, se recomienda utilizar controles, que permitan evaluar la precisión y exactitud de las dosificaciones.

TRAZABILIDAD

La calibración del kit se puede realizar mediante el factor de calibración teórico, basado en la absorptividad molar de 4 - Etidileno-NP-G7, o mediante el calibrador BIOCAL. Bioclin recomienda usar el calibrador BIOCAL, que es trazable al método de referencia descrito en la IFCC: SCHUMANN, G., et al. "IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C: International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC): Scientific Division, Committee on Reference Systems for Enzymes (C-RSE): Part 8. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of α -amylase: [α -Amylase: 1,4- α -D-glucan 4-glucanohydrolase (AMY), EC 3.2.1.1]". Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM), vol. 44, no 9, janeiro de 2006.

VALORES DE REFERENCIA

Los valores de referencia en U/L para el presente método se obtuvieron mediante la determinación de α -amilasa en poblaciones sanas de hombres y mujeres en varios grupos de edad.

Suero: Hombres y Mujeres - 28 a 100 U/L

Orina: Hombres <491 U/L y Mujeres <447 U/L

Relación aclaramiento de amilasa / aclaramiento de creatinina: 1,0 a 4,0%

Estos valores deben usarse como guía y cada laboratorio debe crear su rango de valores de referencia, de acuerdo con la población atendida. Los resultados que proporciona este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable, y no es el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

Estos valores deben usarse como guía y cada laboratorio debe crear su rango de valores de referencia, de acuerdo con la población atendida. Los resultados que proporciona este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable, y no es el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

RENDIMIENTO DEL PRODUCTO

EXACTITUD

Comparación de Métodos

El kit Amylase G7 IFCC se comparó con otro método disponible comercialmente para medir la amilasa. Se realizaron 40 análisis y se evaluaron los resultados. La ecuación lineal obtenida fue $Y = 0,9138X - 3,3580$, con un coeficiente de correlación lineal igual a 1,000. Con estos resultados, se puede concluir que el kit tiene una buena especificidad metodológica.

PRECISIÓN

Repetibilidad

La repetibilidad se calculó a partir del análisis de 10 repeticiones de 3 muestras de diferentes concentraciones, obteniendo los siguientes resultados:

Repetibilidad	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Concentración Media (U/L)	312	751	1467
Desviación Estándar (U/L)	2,3	3,9	12,8
Coefficiente Variación (%)	0,74	0,52	0,88

Reproducibilidad

La reproducibilidad se calculó a partir del análisis de 3 muestras de diferentes niveles durante 15 días, no necesariamente consecutivos, totalizando 60 determinaciones para cada muestra, obteniendo los siguientes resultados:

Reproducibilidad	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Concentración Media (U/L)	156	378	753
Desviación Estándar (U/L)	2,7	6,0	9,9
Coefficiente Variación (%)	1,72	1,59	1,32

SENSIBILIDAD

La sensibilidad se calculó a partir de 40 determinaciones de una muestra libre de la presencia de amilasa. La desviación estándar fue de 1,73 U/L. La sensibilidad, que indica el límite de detección del método, corresponde a 3 veces la desviación estándar 5.2 U/L.

LINEARIDAD

La reacción es lineal hasta 2000 U/L. Para valores superiores a este, diluir la muestra 1:10 en suero fisiológico y multiplicar el resultado encontrado por el factor de dilución (10).

Por ejemplo, si la muestra se diluye 1:10 y el resultado obtenido es 80 U/L, multiplique por 10 (80 x 10) U/L y considere el valor final del valor de actividad de 800 U/L.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

La amilasa, predominantemente de origen pancreático y salival, normalmente está presente en la sangre y la orina en pequeñas cantidades. Aumenta rápidamente en el plasma después del inicio de los síntomas de la pancreatitis aguda, donde en paralelo se observa un aumento de la amilasa urinaria. También se observan valores aumentados en el infarto mesentérico, úlcera gástrica perforada, carcinoma de cabeza pancreática, papeas, insuficiencia renal, acidosis diabética. Se observan niveles plasmáticos reducidos en hepatitis, cirrosis hepática, toxemia del embarazo, eclampsia, carcinoma pancreático.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1-SCHUMANN, G., et al. "IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C: International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC): Scientific Division, Committee on Reference Systems for Enzymes (C-RSE): Part 8. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of α -amylase: [α -Amylase: 1,4- α -D-glucan 4-glucanohydrolase (AMY), EC 3.2.1.1]". Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM), vol. 44, no 9, janeiro de 2006. DOI.org (Crossref), doi:10.1515/CCLM.2006.212.

2-WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31

3-ELLIS S. Benson M.D. & D. B. Tonks PH.D. (1963) Laboratory medicine, Postgraduate Medicine, 34:4, A-58-A-70, DOI: 10.1080/00325481.1963.11694890

4-QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento

GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de ser liberados para el consumo, todos los reactivos de Bioclin son analizados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos está asegurada hasta la fecha de caducidad mencionada en el empaque de presentación, siempre que sean almacenados y transportados en las condiciones adecuadas.

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca

CEP 31565-130 - Belo Horizonte/MG - Brasil

Tel.: +55 31 3439 5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br

CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

ATENIMIENTO AL CONSUMIDOR

Serviço de Asesoría al Cliente

Teléfono: +55 31 3439 5454




E-mail: customerservice@bioclin.com.br

Número de Registro do kit Amilasa G7 IFCC

ANVISA:10269360336

Revisión: Junio/2022

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

	NUMERO DE CATALOGO		FABRICADO POR
	NUMERO DE LOTE		CONTROLAR
	FECHA DE FABRICACIÓN		CONTROL POSITIVO
	FECHA DE VALIDEZ (último día del mes)		CONTROL NEGATIVO
	LÍMITE DE TEMPERATURA (tienda)		RIESGO BIOLÓGICO
	EL CONTENIDO ES SUFICIENTE PARA <N> PRUEBA		INFLAMABLE
	VER INSTRUCCIONES DE USO		CORROSIVO
	PRODUCTO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DE LUZ Y CALOR		NO UTILICE SI EL EMBALAJE ESTÁ DAÑADA
	NO REUTILIZA		PRODUCTO ESTERILIZADO
	PRECAUCIÓN		PELIGRO

Bioclin

AMYLASE G7 IFCC

REF K242

USAGE INSTRUCTIONS

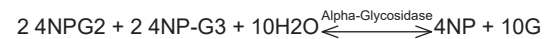
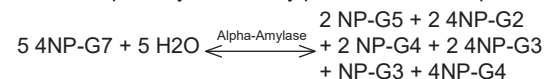
FUNCTION

Test to determine Alpha - Amylase activity in biological samples (serum, plasma, urine), through kinetic test. For *in vitro* diagnostic use only.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: IFCC Kinetics

Alpha-Amylase cleaves substrate 4 - Ethidylene - NP-G7 (4NP-G7) in free oligosaccharides (G5, G4 and G3); and 4NP-G5, 4NGP-4 and 4NP-G3. The NP and G5, G4 and G3 fragments are hydrolyzed by the combined action of amylase and Alpha-Glycosidase, producing Glucose and free p-Nitrophenol (NP), which leads to an increase in absorbance. The rate of NP formation is proportional to the total alphaamylase activity present in the sample.



4NP - Nitrofenol

G - Glicose

REAGENTS

Number 1 - Enzyme Buffer - Store at 2 to 8 °C. Contains: Buffer > 10 mmol/L, Sodium Chloride > 70 mmol/L, Magnesium Chloride > 1 mmol/L, Alpha Glycosidase < 50 KU/L, surfactant and stabilizer.

Number 2 - Substrate - Store at 2 to 8 °C. Contains: Buffer > 10 mmol/L, 4 - Ethidylene-NP-G7 < 10 mmol/L, surfactant and preservative.

PRESENTATION

Presentation	Reagent 1	Reagent 2
1	1 x 40 mL	1 x 10 mL
2	2 x 20 mL	2 x 5 mL

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Thermostatic spectrophotometer, pipettes, clock or stopwatch, test tubes, Biocontrol N, Biocontrol P Bioclin and Biocal Bioclin. These items are found in the specialized market of articles for Clinical Analysis Laboratories.

TRANSPOTATION AND STORAGE CONDITIONS

The storage temperature should be 2 to 8 °C. Transport at temperatures up to 30 °C should not exceed 5 days. Keep away from light and avoid humidity. **Do not freeze**

SPECIAL CARES

1-For *in vitro* diagnostic use only.

2-Strictly follow the proposed methodology to obtain exact results.

3-The water used to clean the material must be fresh and free from contaminants.

4-Saturated deionizing columns release alkaline water, various ions and oxidizing and reducing agents, which can significantly alter the results.

5-Visible hemolysis can cause slight variations in results.

6-Reagent N° 1 and 2 are easily contaminated by saliva. Therefore, we recommend the use of masks, pears and automatic pipettes when handling this product.

7-We recommend applying local, state and federal environmental protection standards so that the disposal of reagents and biological material is carried out in accordance with current legislation.

8-To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the MSDS (Chemical Safety Information Sheet) available on the website www.bioclin.com.br or upon request by the SAC (Service of Chemicals) Customer Service) of Quibasa.

9-Do not use the product in case of damage to the packaging.

10-It is essential that the instruments and equipment used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

SAMPLES

Serum obtained free of hemolysis, plasma collected with heparin. Other anticoagulants (EDTA, Citrate, Oxalate) inhibit the activity of alpha amylase. Stable for 7 days between 15 and 30 °C, 2 months between 2 and 8 °C and 1 year at -20 °C.

Urine. Stable for 2 days at 15 to 30 °C, 10 days at 2 to 8 °C and 3 weeks at -20 °C.

PROCESS DESCRIPTION

The calibration stability of the Amylase G7 IFCC kit installed in refrigerated equipment is at least 10 days. This stability may vary according to the conditions of the reagent, the equipment and the environment. Therefore, it is suggested to monitor the product's performance using control.

WORKING REAGENT PREPARATION

Mix four (4) parts of Reagent N° 1 with one (1) part of Reagent N° 2. The working reagent is stable for 14 days at 2 to 8 °C. Store away from light.

REACTION CONDITIONS

It is essential to use a thermostated cell at 37 °C, an optical path of 1 cm and reading at 405 nm.

TECHNIQUE

Bioclin recommends, for product use, to use the Biocontrol N and P Bioclin kits as control serum.

Add 20 µL of Sample to 1.0 mL of the Working Reagent, mix and transfer to a thermostated cell at 37 °C and wait 2 minutes. Take the initial reading, simultaneously triggering the stopwatch. Repeat the readings after 1, 2 and 3 minutes. Use the same technique to determine the reaction blank, using water as a sample.

Calculate the average of the absorbance differences per minute (Abs/min.) and use it to calculate the result.

CALCULATIONS

Serum or Plasma

Using Factor

Abs/min. = Average (Abs/min Sample) - Average (Abs/min Water)

Alpha Amylase Activity (U/L) = Abs/min x Factor

Factor 5,040

Using Calibrator

Alpha Amylase Activity (U/L) =

$\frac{\text{Average (Abs/min. Sample)} - \text{Average (Abs/min Water)}}{\text{Average (Abs/min. Calibrator)} - \text{Average (Abs/min Water)}} \times \text{Cal Conc.}$

Average (Abs/min. Calibrator) - Average (Abs/min Water)

Cal Conc. = Calibrator Concentration in U/L

Urine

Using Factor

Abs/min. = Average (Abs/min Sample) - Average (Abs/min Water)

Alpha Amylase Activity (U/L) = Abs/min x Factor

Factor 10,080

Using Calibrator

Alpha Amylase Activity (U/L) =

$\frac{\text{Average (Abs/min. Sample)} - \text{Average (Abs/min Water)}}{\text{Average (Abs/min. Calibrator)} - \text{Average (Abs/min Water)}} \times \text{Cal Conc.}$

Average (Abs/min. Calibrator) - Average (Abs/min Water)

Cal Conc. = Calibrator Concentration in U/L

Urinary Amylase (U/h) = $\frac{\text{U/L} \times \text{V Amylase}}{\text{H} \times 1000}$

V = Urinary Volume in mL

H = Number of hours of urinary collection

Example

Urinary Amylase (value found in the dosage) = 90 U/L

V = 200 mL

H = 2

Urinary Amylase (U/h) = $(90 \times 200) / (2 \times 1000) = 9 \text{ U/h}$

Amylase clearance/creatinine clearance ratio

The evaluation of the Amylase clearance/Creatinine clearance ratio is important for determining the diagnosis of acute pancreatitis. To determine the patient's clearance ratio (Amylase/Creatinine), the Amylase activity and the concentration of creatinine in serum and in a urine sample.

So we have:

Ratio (%) =

$\frac{\text{Urine Amylase (U/L)} \times \text{Serum Creatinine (mg/dL)} \times 100}{\text{Serum Amylase (U/L)} \times \text{Urine Creatinine (mg/dL)}}$

For an average change in absorbance at 405 nm greater than 0.25, repeat the determination, diluting the sample with 0.85% NaCl.

Multiply the result obtained by the dilution factor. For data conversion in the International System (SI), multiply the result: U/L x 0.01667 = µkat/L.

LIMITATIONS OF THE PROCESS

The specifications below refer to semi-automatic equipment:

The kinetic method is based on molar absorptivity, for this reason, readings must be performed on a spectrophotometer that meets the following conditions:

Wavelength 405 nm

Semi-path of the 10 nm passband

Spurious light less than 0.5%

Thermostatic 1cm bucket

INTERFERENT

Saliva contains Amylase. Therefore, you should not pipette by mouth and avoid contact of the reagent with the skin. Lipemia (Triglycerides up to 1000 mg/dL) and Bilirubin (up to 50 mg/dL) do not interfere with the methodology. Hemoglobin up to 600 mg/dL and Ascorbic Acid up to 45 mg/dL do not interfere with the results. Some drugs can interfere with laboratory results by increasing serum Amylase levels (morphine, meperidine, codeine, thiazide diuretics) or decreasing, as in cases of barbiturate poisoning.

INTERNAL QUALITY CONTROL

The Clinical Laboratory must have an internal quality control program, where procedures, standards, limits and tolerance for variations are clearly established. It is important to note that all measurement systems have a characteristic analytical variability, which must be monitored by the laboratories themselves. For that, it is recommended to use controls, which allow to evaluate the precision and accuracy of the dosages.

TRACEABILITY

The calibration of the kit can be done using the theoretical calibration factor, based on the molar absorptivity of 4 - Ethidylene-NP-G7, or through the BIOCAL calibrator. Bioclin recommends using the BIOCAL calibrator, which is traceable to the Reference method described in the IFCC: SCHUMANN, G., et al. "IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C:

International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC): Scientific Division, Committee on Reference Systems for Enzymes (C-RSE): Part 8. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of α -amylase: [α -Amylase: 1,4- α -D-glucan 4-glucanohydrolase (AMY), EC 3.2.1.1]". Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM), vol. 44, no 9, janeiro de 2006.

REFERENCE VALUES

The reference values in U/L for the present method were obtained through the determination of Alfa-Amylase in healthy male and female populations in various age groups.

Serum: Men and Women - 28 to 100 U/L

Urine: Men < 491 U/L and Women < 447 U/L

Amylase clearance/creatinine clearance ratio: 1.0 to 4.0%

These values should be used as a guide, and each laboratory should create its range of reference values, according to the population served. The results provided by this kit must be interpreted by the responsible medical professional, and it is not the only criterion for determining the patient's diagnosis and/or treatment.

These values should be used as a guide, and each laboratory should create its range of reference values, according to the population served. The results provided by this kit must be interpreted by the responsible medical professional, and it is not the only criterion for determining the patient's diagnosis and/or treatment.

PRODUCT PERFORMANCE

ACCURAY

Comparison of Methods

The Amylase G7 IFCC kit was compared with another commercially available method for measuring Amylase. 40 analyzes were performed and the results were evaluated. The linear equation obtained was $Y = 0.9138X - 3.3580$, with a linear correlation coefficient equal to 1.000. With these results, it can be concluded that the kit has good methodological specificity.

PRECISION

Repeatability

Repeatability was calculated from the analysis of 10 repetitions of 3 samples of different concentrations, obtaining the following results:

Repeatability	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Average Concentration (U/L)	312	751	1467
Standard Deviation (U/L)	2.3	3.9	12.8
Coefficient of Variation (%)	0.74	0.52	0.88

Reproducibility

Reproducibility or was calculated from the analysis of 3 samples of different levels during 15 days, not necessarily consecutive, totaling 60 determinations for each sample, obtaining the following results:

Reproducibility	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Average Concentration (U/L)	156	378	753
Standard Deviation (U/L)	2.7	6.0	9.9
Coefficient of Variation (%)	1.72	1.59	1.32

SENSITIVITY

Sensitivity was calculated from 40 determinations of a sample free from the presence of amylase. The standard deviation was 1.73 U/L. The sensitivity, which indicates the detection limit of the method, corresponds to 3 times the standard deviation 5.2 U/L.

LINEARITY

The reaction is linear up to 2000 U/L. For values above this value, dilute the sample 1:10 in physiological saline and multiply the result found by the dilution factor (10). For example, if the sample is diluted 1:10 and the result obtained is 80 U/L, multiply by 10 (80 x 10) U/L and consider the final value of the activity value of 800 U/L.

DIAGNOSTIC MEANING

Amylase, predominantly of pancreatic and salivary origin, is normally present in blood and urine in small amounts. It rises rapidly in the plasma after the onset of symptoms of acute pancreatitis, where in parallel an increase in urinary amylase is observed. Increased values are also observed in infarction mesenteric, perforated gastric ulcer, pancreatic head carcinoma, mumps, renal failure, diabetic acidosis. Decreased plasma levels are seen in hepatitis, liver cirrhosis, toxemia of pregnancy, eclampsia, pancreatic carcinoma.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

1-SCHUMANN, G., et al. "IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C: International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC): Scientific Division, Committee on Reference Systems for Enzymes (C-RSE): Part 8. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of α -amylase: [α -Amylase: 1,4- α -Dglucan 4-glucanohydrolase (AMY), EC 3.2.1.1]". Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM), vol. 44, no 9, janeiro de 2006. DOI.org (Crossref), doi:10.1515/CCLM.2006.212.

2-WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31

3-ELLIS S. Benson M.D. & D. B. Tonks PH.D. (1963) Laboratory medicine, Postgraduate Medicine, 34:4, A-58-A-70, DOI: 10.1080/00325481.1963.11694890

4 - QUIBASA: Data from the Research and Development Department

QUALITY ASSURANCE

Before being released for consumption, all **Bioclin** reagents are tested by the Quality Control Department. The quality of the reagents is ensured until the expiration date mentioned on the presentation packaging, provided they are stored and transported under the appropriate conditions.

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca

CEP 31565-130 - Belo Horizonte/MG - Brasil

Tel.: +55 31 3439 5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br

CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

CUSTOMER SERVICE

Customer Advisory Service

Phone: +55 31 3439 5454

E-mail: customerservice@bioclin.com.br

Amylase G7 IFCC ANVISA kit registration number: 10269360336

Review: June/2022

UNIVERSAL SYMBOLOGY

