



AMILASE CINÉTICA

REF K046

INSTRUÇÕES DE USO

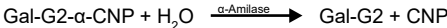
FINALIDADE

Método para a determinação da α-Amilase. Teste cinético, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Cinética

A α-Amilase catalisa a hidrólise do α-(2-Cloro-4-Nitrofenil)-β-1,4-Galactopiranosilmaltoside (Gal-G2-α-CNP) liberando 2-Cloro-4-Nitrofenol (CNP) e 1,4 Galactopiranosilmaltoside (Gal-G2). A concentração catalítica é determinada a partir da velocidade de formação do 2-Cloro-4-Nitrofenol, medido a 405 nm.



REAGENTES

Número 1 - Substrato Tamponado - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Tampão MES < 200 mmol/L, Gal-G2-α-CNP < 5 mmol/L, ativadores, estabilizantes e conservante.

APRESENTAÇÃO

Apresentação	Reagente Nº 1
1	3 x 20 mL
2	5 x 20 mL
3	5 x 40 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Espectrofotômetro termostatizado, pipetas, relógio ou cronômetro, tubos de ensaio, Biocontrol N, Biocontrol P Bioclin e Biocal Bioclin. Encontram-se 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. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

CUIDADOS ESPECIAIS

- 1- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.**
- 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-** O Reagente Nº1 é facilmente contaminado por saliva. Portanto, recomendamos a utilização de máscaras, peras e pipetas automáticas durante o manuseio deste produto.
- 7-** O reagente Nº1 contém Azida Sódica que pode ser irritante para pele e mucosas. Manusear com cuidado.
- 8-** 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.

9- 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.

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

11- 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, urina e líquidos cavitários (ascítico, duodenal ou pleural). Outros anticoagulantes (EDTA, Citrato, Oxalato) inibem a atividade da Amilase.

Soro e Plasma: 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. Coletar em intervalo de 2 a 24 horas.

Líquidos cavitários (ascítico, duodenal ou pleural): estável por até 7 dias a -20°C.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

PREPARO DOS REAGENTES

O reagente é pronto para uso.

A estabilidade de calibração do kit Amilase Cinética instalado em equipamento com refrigeração é de pelo menos 4 semanas. 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.

CONDIÇÕES DE REAÇÃO

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

TÉCNICA

A Bioclin recomenda, para uso do kit, utilizar como calibrador o kit Biocal Bioclin e como soro controle os kits Biocontrol N e P Bioclin.

Soro ou Plasma

Adicionar 20 µL de amostra a 1,0 mL do Substrato Tamponado, misturar e transferir para cubeta termostatizada a 37°C. Fazer a leitura inicial, disparando simultaneamente o cronômetro. Repetir as leituras após 1, 2 e 3 minutos. Calcular a média das diferenças de absorbância por minuto (ΔA/min.) e utilizar para cálculo do resultado.

Urina

Homogeneizar, medir e anotar o volume urinário em mL e o tempo de coleta da amostra. Proceder a dosagem como descrito para o soro.

CÁLCULOS

Soro ou Plasma

Amilase (U/L) = ΔA/min. x 3954

Os resultados serão expressos em U/L.

Urina

Amilase (U/L) = ΔA/min. x 3954

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

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

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

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 semi-automáticos:

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 termostatizada

INTERFERENTES

A saliva contém Amilase. Portanto, não deve-se pipetar com a boca e evitar o contato do reagente com a pele. A lipemia (Triglicérides até 1000 mg/dL) e a Bilirrubina (até 20 mg/dL) não interferem com a metodologia. Hemoglobina até 2,5 g/L não interfere 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 2-Cloro-4-Nitrofenol, ou através do calibrador BIOCAL. A Bioclin recomenda o uso do calibrador BIOCAL, que é rastreável ao material de referência IRMM/IFCC-456.

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: < 125 U/L
Urina: < 450 U/L ou < 30 U/h

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.

DESEMPENHO DO PRODUTO
CONTROLE DE QUALIDADE

Exatidão
COMPARAÇÃO DE MÉTODOS E ESPECIFICIDADE METODOLÓGICA
O kit Amilase Cinética foi comparado com outro método para dosagem de Amilase, comercialmente disponível. Foram realizadas 42 análises e os resultados foram avaliados. A equação linear obtida foi $Y = 1,0771X + 0,3224$, com coeficiente de correlação linear igual a 0,9998. Com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

Precisão
REPETIBILIDADE

A repetibilidade foi calculada a partir de 40 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração média (U/L)	110,33	277,60	194,63
Desvio Padrão (U/L)	1,05	2,53	1,44
Coeficiente de variação (%)	0,95	0,91	0,74

REPRODUTIBILIDADE

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 40 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração média (U/L)	111,73	276,70	194,52
Desvio Padrão (U/L)	1,23	3,46	2,56
Coeficiente de variação (%)	1,10	1,25	1,32

Sensibilidade

A sensibilidade foi calculada a partir de 40 determinações de uma amostra isenta da presença de amilase. A média encontrada foi 2,23 U/L, com desvio padrão de 0,42 U/L. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde à média mais 3 vezes o desvio padrão e é igual a 3,49 U/L.

Linearidade

A reação é linear até a concentração de 2000 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

- Winn-Deen ES, David H, Sigler G and Chavez R. Development of a direct assay for a-amylase. Clin Chem 1988; 34: 2005-2008.
- Balsells D, Gella FJ, Gubern G, Canalías F. Reference values for a-amylase in human serum and urine using 2-Chloro-4-Nitrophenyl-a-D-Maltotrioside as substrate. Clin Chim Acta 1998; 274: 213-217.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994.
- 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.

GARANTIA DE 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 - Fax: (31) 3439.5455
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira



OBELIS S.A.

Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente
Tel.: 0800 031 5454
E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro do kit de Amilase Cinética na ANVISA: 10269360079

Revisão: Outubro/2019

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



O CONTEÚDO É SUFICIENTE
PARA <N> TESTES



INFLÂMÁVEL



CONSULTAR INSTRUÇÕES
DE USO



CORROSIVO



PRODUTO PARA
DIAGNÓSTICO IN VITRO



TÓXICO



REPRESENTANTE
EUROPEU AUTORIZADO



MARCA CE



PROTEGER DA
LUZ E CALOR



NÃO UTILIZAR SE A
EMBALAGEM ESTIVER
DANIFICADA

AMILASA CINÉTICA

REF K046

INSTRUCCIONES DE USO



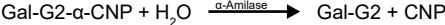
FINALIDAD

Método para la determinación de α-Amilasa. Test cinético, solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Cinética

La α-Amilasa cataliza la hidrólisis de la α- (2-Cloro-4-Nitrofenil) -β-1,4-Galactopiranosilmaltoside (Gal-G2-α-CNP) liberando 2-Cloro-4-Nitrofenol (CNP) y 1, 4 Galactopiranosilmaltoside (Gal-G2). La concentración de catalizador se determina a partir de la velocidad de formación de 2-Cloro-4-Nitrofenol, medido a 405 nm.



REACTIVOS

Número 1 - Substrato Tamponado - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Tampón MES < 200 mmol/L, Gal-G2-α-CNP < 5 mmol/L, activadores, estabilizadores y conservante.

PRESENTACIÓN

Presentación	Reactivo Nº 1
1	3 x 20 mL
2	5 x 20 mL
3	5 x 40 mL

EQUIPAMIENTOS E INSUMOS OPERACIONALES

Espectrofotómetro termostatzado, pipetas, reloj o cronómetro, tubos de ensayo, Biocontrol N, Biocontrol P Bioclin y Biocal Bioclin. Materiales encontrados en el mercado especializado de artículos para Laboratorios de Análisis Clínicas.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento deberá ser de 2 a 8°C. El transporte en temperaturas hasta 30°C no deberá exceder 5 días. Mantener cubierta de la luz y evitar humedad. No congelar.

CUIDADOS ESPECIALES

- 1- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro* profesional.
- 2- Seguir con rigor la metodología propuesta para obtención de resultados exactos.
- 3- El agua utilizada en la limpieza del material debe ser reciente e exenta de agentes contaminantes.
- 4- Columnas deionizadoras saturadas liberan agua alcalina, iones diversos y agentes oxidantes y reductores, que pueden alterar de forma significativa los resultados.
- 5- Hemólise visible puede ser causa de variaciones en los resultados.
- 6- El Reactivo N°1 es facilmente contaminado por saliva. Por esto, recomendamos la utilización de máscaras, peras e pipetas automáticas cuando se manusea este producto.
- 7- El reactivo N° 1 contiene Azida Sódica que puede ser irritante para la piel y mucosas. Manosear con cuidado.
- 8- Se recomienda la aplicación de la ley local, estatal y federal de protección ambiental para la eliminación de

reactivos y material biológico se hace de acuerdo con la legislación vigente.

9- Para obtener información relacionada con la seguridad biológica o en caso de accidentes con el producto, consultar la FISPQ (Ficha de Informaciones de la Seguridad de Productos Químicos) disponibles en el site www.bioclin.com.br o solicitando a través del SAC (Servicio de Asesoría al Cliente) de Quibasa.

10- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.
11- Es esencial que los instrumentos y equipos utilizados estén adecuadamente calibrados y sometidos a mantenimientos periódicos.

MUESTRAS

Suero obtenido libre de hemólisis, plasma cojido com Heparina, Orina y Líquidos cavitarios (ascítico, duodenal o pleural) Otros anticoagulantes (EDTA, Citrato, Oxalato) inibem la actividad de Amilasa.

Suero y Plasma: estable durante 7 días entre 15 y 30°C, 2 meses entre 2 y 8°C y 1 año a -20°C.
Orina: estable por 2 días entre 15 y 30°C, 10 días entre 2 y 8°C y 3 semanas a -20°C. Colectar em intervalo de 2 a 24 horas. Líquidos cavitários (ascítico, duodenal o pleural): estable por 7 dias a -20°C.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

PREPARO DEL REACTIVO

El reactivo es listo para uso.

La estabilidad de calibración del kit de Amilasa Cinética instalado en equipos refrigerados es de al menos 4 semanas. Esta estabilidad puede variar según las condiciones del reactivo, el equipo y el entorno. Por lo tanto, se sugiere seguir el rendimiento del producto utilizando sueros de control.

CONDICIONES DE REACCIÓN

Es condición indispensable el uso de cubeta termostatzada a 37°C, paso de luz de 1 cm y lectura en 405 nm.

TÉCNICA

La Bioclin recomienda, para uso del kit, utilizar como calibrador el Kit Biocal Bioclin y como suero control los kits Biocontrol N y P Bioclin.

Suero o Plasma

Adicionar 20 µL de muestra a 1,0 mL del Substrato Tamponado, mezclar y transferir para cubeta termostatzada a 37°C. Hacer la lectura inicial, disparando simultaneamente el cronómetro. Repetir las lecturas después de 1, 2 y 3 minutos. Calcular la media de las diferencias de absorbancia por minuto (ΔA/min.) y utilizar para cálculo del resultado.

Orina

Mezclar, medir y registrar el volumen de orina en mL y el momento de la toma de muestras. Proceder dosis como se describe para el suero.

CÁLCULOS

Suero o Plasma

Amilasa (U/L) = ΔA/min. x 3954
Los resultados se expresan como U/L.

Orina

Amilasa (U/L) = ΔA/min. x 3954

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

V= Volumen urinário em mL

H = Número de horas de recolección de orina

Ejemplo

Amilasa orinária(valor encontrado en la dosificación) = 90 U/L
V = 200 mL
H = 2

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

Relación de depuración de amilasa / depuración de creatinina

La evaluación de la relación de depuración amilasa / depuración de creatinina es importante para determinar el diagnóstico de pancreatitis aguda. Para determinar la relación de depuración (amilasa / creatinina) del paciente, se debe determinar la actividad de amilasa y la concentración de creatinina en suero y una muestra de orina. Ecuación para el cálculo:

Relación (%) = $\frac{\text{Amilasa en la Orina (U/L)} \times \text{Creatinina en el Suero (mg/dL)}}{\text{Amilasa en el Suero (U/L)} \times \text{Creatinina en la Orina (mg/dL)}} \times 100$

Para una variación media en la absorbancia a 405 nm mayor que 0,25, repetir la determinación, diluyendo la muestra con NaCl 0,85%. Multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución. Para conversión de los dados en Sistema Internacional (SI), multiplicar el resultado: U/L X 0,01667 = µkat/L

LIMITACIONES DEL PROCESO

Las especificaciones abajo refierense a equipamientos semiautomáticos:
El método cinético basease en la absortividad molar, por esto, las lecturas deben ser hechas en espectrofotómetro que tenga las condiciones:
Comprimento de onda 405 nm
Semi trajetória da banda de pasagen 10 nm
Luz espúria menor que 0,5%
Cubeta de 1cm termostatzada

INTERFERENTES

La saliva contiene Amilasa. Asi, no se debe pipetar con la boca y evitar el contacto del reactivo con la piel. La lipemia (Triglicéridos hasta 1000 mg/dL) y la Bilirrubina (hasta 20 mg/dL) no interfieren con la metodología. Hemoglobina hasta 2,5 g/L no interfiere en los resultados. Algunas drogas pueden interferir en los resultados laboratoriales elevando los niveles séricos de Amilasa (morfina, meperidina, codeína, diuréticos tiazídicos) o disminuyendo, como en casos de envenenamiento por barbitúricos.

CONTROL INTERNO DE CALIDAD

El Laboratorio Clínico debe poseer un programa interno de control de calidad, donde procedimientos, normas, límites y tolerancia para variaciones sean claramente establecidos. Es importante resaltar que todos los sistemas de medición presentan una variabilidad analítica característica, que debe ser vigilada por los propios laboratorios. Por lo tanto, es recomendable la utilización de controles, que permiten la evaluación, la precisión y la exactitud de las dosificaciones.

TRAZABILIDAD

El kit se puede calibrar usando el factor de calibración teórica basada en la capacidad de absorción molar del 2-Cloro-4-Nitrofenol, o a través del calibrador BIOCAL. Bioclin recomienda el uso del calibrador BIOCAL que es trazable al material de referencia IRMM/IFCC-456.

VALORES DE REFERENCIA

Los valores de referencia en U/L para el presente método fueron obtenidos para la determinación de α -Amilasa en poblaciones sanas del sexo masculino y femenino, en varios rangos de edad.
Suero: < 125 U/L
Orina: < 450 U/L o < 30 U/h

Relación de depuración de amilasa/ depuración de creatinina: 1,0 hasta 4,0 %

Estos valores deben ser usados como orientación, siendo que cada laboratorio debiera crear sus rango de valores de referencia, de acuerdo con la población atendida. Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable, no siendo el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO

CONTROL DE CALIDAD

Exactitud

COMPARACIÓN DE METODOS Y ESPECIFICIDAD METODOLÓGICA

El kit Amilasa Cinética fue comparado con otro método para dosificación de Amilasa comercialmente disponible. Fueron realizadas 42 análisis y los resultados fueron evaluados. La ecuación linear obtenida fue $Y = 1,0771X + 0,3224$, con coeficiente de correlación igual a 0,9998. Con estos resultados se puede concluir que el kit presenta buena especificidad metodológica.

Precisión

REPETIBILIDAD

La repetibilidad fue calculada a partir de 40 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Concentración Promedio (U/L)	110,33	277,60	194,63
Desvío Patrón (U/L)	1,05	2,53	1,44
Coefficiente de variación (%)	0,95	0,91	0,74

REPRODUCTIBILIDAD

La reproductibilidad fue calculada a partir de 40 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Concentración Promedio (U/L)	111,73	276,70	194,52
Desvío Patrón (U/L)	1,23	3,46	2,56
Coefficiente de variación (%)	1,10	1,25	1,32

Sensibilidad

La sensibilidad fue calculada a partir de 40 determinaciones de una muestra exenta de la presencia del amilasa. El promedio encontrado fue 2,23 U/L, con desvío patrón de 0,42 U/L. La sensibilidad, que indica el límite de detección del método, corresponde el promedio mas 3 veces el desvío patrón siendo 3,49 U/L.

Linearidad

La reacción es lineal hasta la concentración de 2000 U/L.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

La Amilasa, predominantemente de origen pancreática e salivar, esta normalmente presente en sangre y orina en pequeñas cantidades. Elevase rapidamente en plasma despues del principio de sintomas de pancreatitis aguda, onde paralelamente observase un aumento de la Amilasa orinária.

Valores aumentados son observados tambien en infarto mesentérico, úlcera gástrica perforada, carcinoma de cabeza de páncreas, paperas, insuficiencia renal, acidosis diabética. Niveles plasmaticos disminuidos son observados en la hepatitis, cirrosis hepática, toxemia de embarazo, eclampsis, carcinoma pancreático.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Winn-Deen ES, David H, Sigler G and Chavez R. Development of a direct assay for α -amylase. Clin Chem 1988; 34: 2005-2008.
- Balsells D, Gella FJ, Gubern G, Canalias F. Reference values for α -amylase in human serum and urine using 2-Chloro-4-Nitrophenyl- α -D-Maltotrioxide as substrate. Clin Chim Acta 1998; 274: 213-217.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994.
- 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.

GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de ser liberados para el consumo, todos los reactivos Bioclin son testados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos es asegurada hasta la fecha de validad mencionada en la caja de presentación, si almacenados y transportados en 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 - Fax: +55 (31) 3439.5455
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Industria Brasileira



OBELIS S.A.

Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

ATENDIMIENTO AL CONSUMIDOR

Servicio de Asesoría al Cliente
Tel.: 0800 0315454
E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro de lo kit de Amilasa Cinética en la ANVISA: 10269360079

Revisión: Octubre/2019

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL



NÚMERO DEL CATÁLOGO



ELABORADO POR



NÚMERO DE LOTE



CONTROL



FECHA DE FABRICACIÓN



CONTROL POSITIVO



ESTABLE HASTA
(último día del mês)



CONTROL NEGATIVO



TEMPERATURA LIMITE
(conservar a)



RIESGO BIOLÓGICO



CONTENIDO SUFICIENTE
PARA <N> TESTES



INFLAMABLE



CONSULTAR INSTRUCCIONES
DE USO



CORROSIVO



DISPOSITIVO DE
DIAGNÓSTICO IN VITRO



TÓXICO



EUROPEA REPRESENTANTE
AUTORIZADO



MARCADO CE



PROTEGER DEL
LUZ Y CALOR



NO UTILICE SI EL
EMBALAJE ESTA
DAÑADA

AMYLASE KINETIC

REF K046

USAGE INSTRUCTIONS



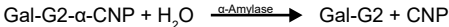
FUNCTION

Method for determination of the α-Amylase. Kinetic test, only for *in vitro* diagnostic use.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Kinetic

The α-Amylase catalyzes the hydrolysis of the α-(2-Chloro-4-Nitrophenyl)-β-1,4-Galactopiranosilmaltoside (Gal-G2-α-CNP) releasing 2-Chloro-4-Nitrophenol (CNP) and 1,4 Galactopiranosilmaltoside (Gal-G2). The catalyst concentration is determined from the rate of 2-Chloro-4-Nitrophenol formation, measured at 405 nm.



REAGENTS

Number 1 - Buffered Substrate - Store between 2 and 8°C. Contains: MES buffer < 200 mmol/L, Gal-G2-α-CNP < 5 mmol/L, activators, stabilizers and preservative.

PRESENTATION

Presentation	Reagent Nº 1
1	3 x 20 mL
2	5 x 20 mL
3	5 x 40 mL

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Thermostated spectrophotometer, pipettes, watch or stopwatches, test tubes, Biocontrol N, Biocontrol P Bioclin and Biocal Bioclin. They can be found at markets specialized on Laboratories of Clinical Analysis.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The storage temperature should be between 2 to 8°C. The transport at temperatures up to 30°C should not exceed 5 days. Protect from light and avoid moisture. **Do not freeze.**

SPECIAL CARE

- 1- **For professional *in vitro* diagnostic use only.**
- 2- Strictly follow the methodology proposed to obtain exact results.
- 3- Water used in material cleaning must to be recent and free of contaminants.
- 4- Saturated deionizer columns release alkaline water, many ions, oxidizing agents and reducers that may alter the results significantly.
- 5- Visible hemolysis may cause slight variations in results.
- 6- Reagent Nº1 is easily contaminated by saliva. Therefore, we recommend the use of masks, pears and automatic pipettes for handling this product.
- 7- Reagent Nº 1 contain Sodium Azide which can be irritating to skin and mucous membrans. Handle with care.
- 8- We recommend applying the local, state and federal rules for environmental protection, so that disposal of reagents and

biological material can be made in accordance with current legislation.

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

10- Do not use the product in case of damaged packaging.

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

SAMPLES

Serum obtained free of hemolysis, plasma with Heparin, Urine and cavitary fluids (ascitic, duodenal and pleural). Other anticoagulants (EDTA, Citrate, Oxalate) inhibit the activity of Amylase.

Serum or Plasma: stable for 7 days at 15 to 30°C, 2 months at 2 to 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. Gather in the range of 2 to 24 hours.

Cavitary fluids (ascitic, duodenal and pleural): Stable 7 days at -20°C.

PROCESS DESCRIPTION

REAGENTS PREPARATION

The Working Reagent is ready for use.

The calibration stability of the Amylase Kinetic kit installed on refrigerated equipment is at least 4 weeks. This stability may vary depending on the conditions of the reagent, equipment and environment. Therefore, it is suggested to follow the product performance using control sera.

REACTION CONDITIONS

It is indispensable the use of thermostated cuvette at 37°C, light path of 1cm and reading at 405 nm.

TECHNIQUE

Bioclin recommends using the kit Biocal as calibrator and as control serum Biocontrol N and P Bioclin kits.

Serum or Plasma

Add 20 µL of sample to 1,0 mL of Buffered Substrate, mix and transfer to a thermostated cuvette at 37°C. Make the initial reading, simultaneously starting the timer. Repeat the readings at 1, 2 and 3 minutes. Calculate the mean difference in absorbance per minute (ΔA/min.) and used to calculate the result.

Urine

Mix, measure and note the urinary volume in mL and the time of sample collection. Proceed dosage as described for serum.

CALCULATIONS

Serum or Plasma

Amylase (U/L) = ΔA/min. x 3954
Results are expressed in U/L.

Urine

Amylase (U/L) = ΔA/min. x 3954

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

V = Urinary volume in mL

H = Hours from urine 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

Evaluation of the amylase clearance / creatinine clearance ratio is important for determining the diagnosis of acute pancreatitis. To define the clearance ratio (Amylase / Creatinine) of the patient, amylase activity and creatinine concentration in serum and a urine sample should be determined.

Equation:

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

For an average variation in absorbance at 405 nm greater than 0,25, repeat the determination, diluting the sample with 0,85% NaCl. Multiply the result by the dilution factor. To convert the data in the International System (SI), multiply the result: U/L x 0,01667 = µkat/L

PROCEDURE LIMITATIONS

The specifications below are for semi-automatic equipment: The kinetic method is based on the molar absorptivity, therefore, the readings should be performed in a spectrophotometer that satisfies the following conditions: Wavelength 405 nm
Semi trajectory of the pass band 10 nm.
Stray light less than 0,5%.
1cm thermostated cuvette

INTERFERING

Saliva contains amylase. Therefore, you should not pipet by mouth and avoid contact of the reagent with the skin. The lipemia (triglycerides up to 1000 mg/dL) and bilirubin (up to 20 mg/dL) do not interfere with the methodology. Hemoglobin up to 2,5 g/L no affect the results. Some drugs may interfere with laboratory results, elevate the levels of serum amylase (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, where all procedures, rules, limits and tolerance to variations be clearly established. It is important to mention that all measurement systems present a analytical variety, and it must be monitor by the laboratory. Therefore, it is recommendable the use of controls, allowing the precision and accuracy of the dosages.

TRACEABILITY

The kit calibration can be made using the theoretical calibration factor based on the molar absorptivity of the 2-Cloro-4-Nitrofenol, or through the BIOCAL calibrator. Bioclin recommends the usage of the BIOCAL calibrator which is traceable to the reference material IRMM/IFCC-456.

REFERENCE VALUES

The reference values in U/L for this method were obtained by determining the α-Amylase in healthy populations of males and females in various age groups.
Serum: < 125 U/L
Urine: < 450 U/L or < 30 U/h

Amylase clearance / creatinine clearance ratio: 1,0 to 4,0 %

These values should be used as guidelines, each laboratory should establish its range of reference values, according to the population served.
The results provided by this kit must be interpreted by the medical professional responsible, not being the only criterion for the determination of diagnosis and/or treatment of the patient.

PRODUCT PERFORMANCE
QUALITY CONTROL

Accuracy
COMPARISON OF METHODS AND METHODOLOGICAL SPECIFICITY
The Amylase Kinetic kit was compared with another method commercially available to measure Amylase. 42 analysis were conducted and the results were evaluated. The linear equation was obtained $Y = 1,0771X + 0,3224$, with a correlation coefficient equal to 0,9998. With these results we can conclude that the kit has good methodological specificity.

Precision
REPEATABILITY
The repeatability was calculated from 40 successive determinations, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Average Concentration (U/L)	110,33	277,60	194,63
Standard Deviation (U/L)	1,05	2,53	1,44
Coefficient of Variation (%)	0,95	0,91	0,74

REPRODUCIBILITY
The reproducibility was calculated from 40 successive determinations for 3 consecutive days, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Average Concentration (U/L)	111,73	276,70	194,52
Standard Deviation (U/L)	1,23	3,46	2,56
Coefficient of Variation (%)	1,10	1,25	1,32

Sensitivity
The sensitivity was calculated from 40 determinations of a sample free of Amylase. The average found was of 2,23 U/L with standard deviation of 0,42 U/L. The sensitivity, which indicates the method detection limit, corresponds the average plus 3 times the standard deviation and is equal to 3,49 U/L.

Linearity
The reaction is linear up to 2000 U/L.

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE
The Amylase, predominantly of pancreatic and salivary, is normally present in blood and urine in small quantities. Increases rapidly in plasma after the onset of acute pancreatitis, where there is a parallel increase in urinary amylase.
Elevations are also found in mesenteric infarction, perforated gastric ulcer, carcinoma of the head of the pancreas, mumps, kidney failure, diabetic acidosis. Decreased plasma levels are observed in hepatitis, liver cirrhosis, toxemia of pregnancy, eclampsia, pancreatic carcinoma.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES
1. Winn-Deen ES, David H, Sigler G and Chavez R. Development of a direct assay for α-amylase. Clin Chem 1988; 34: 2005-2008.
2. Balsells D, Gella FJ, Gubern G, Canalias F. Reference values for α-amylase in human serum and urine using 2-Chloro-4-Nitrophenyl-α-D-Maltotriose as substrate. Clin Chim Acta 1998; 274: 213-217.
3. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994.
4. 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.

QUALITY ASSURANCE
Before being released for consumption, all Bioclin reagents are tested by the Department of Quality Control. The quality of reagents is assured until expiration date stated on the presentation packaging, when stored and transported under appropriate conditions.

 **QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda**
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Phone.: +55 (31) 3439.5454 - Fax: +55 (31) 3439.5455
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Made in Brazil

EC

REP

OBELIS S.A.

English 2/2

Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

CUSTOMER SERVICE
Customer Advisory Service
Phone.: 0800 0315454
E-mail: sac@bioclin.com.br

ANVISA registration for Amylase Kinetic kit: 10269360079

Review: October/2019

UNIVERSAL SYMBOLOGY

CATALOG NUMBER

BATCH CODE

DATE OF MANUFACTURE

USED BY
(last day of month)

TEMPERATURE LIMITATION
(store at)

CONTAINS SUFFICIENT
FOR <N> TESTS

CONSULT INSTRUCTIONS
FOR USE

IN VITRO DIAGNOSTIC DEVICE

EUROPEAN AUTHORIZED
REPRESENTATIVE

KEEP AWAY
FROM SUNLIGHT

MANUFACTURED BY

CONTROL

POSITIVE CONTROL

NEGATIVE CONTROL

BIOLOGICAL RISK

INFLAMMABLE

CORROSIVE

POISON

CE MARK

DO NOT USE IF
PACKAGE IS
DAMAGED