

Instruções de Uso

Somente para uso diagnóstico in vitro

ALFA AMILASE G7 MS/ANVISA 80115310093

Reagente para determinação quantitativa in vitro de ALFA Amilase em soro, plasma ou urina em sistemas fotométricos.

APRESENTAÇÃO

Artigo nº	Apresentação
2080250T	R1 10x20mL + R2 2x25mL
2080075K	R1 3x20mL + R2 1x15mL

SUMÁRIO

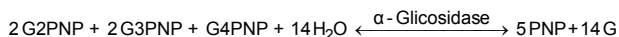
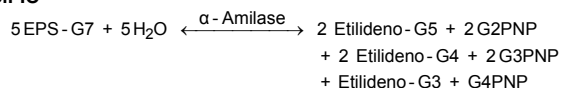
As alfa amilases são enzimas hidrolíticas que transformam o amido em maltoses. No corpo humano as alfa amilases se originam em diferentes órgãos: a amilase pancreática é produzida pelo pâncreas e liberada no trato intestinal, a amilase salivar é sintetizada nas glândulas salivares e secretada na saliva. A amilase presente no sangue é eliminada pelos rins e excretada na urina. Por conseguinte, a elevação da atividade sérica está relacionada a um aumento da atividade da amilase urinária.

A medição da alfa amilase no soro e na urina é utilizada principalmente para o diagnóstico de desordens pancreáticas assim como também para detectar o desenvolvimento de complicações. Na pancreatite aguda a atividade da amilase pancreática sanguínea aumenta em poucas horas após a dor abdominal, alcança o pico máximo aprox. em 12 horas e retorna aos níveis de referência o mais tardar em 5 dias. A especificidade da alfa amilase para as desordens pancreáticas não é muito alta, pois níveis elevados de amilase também são medidos em várias doenças não pancreáticas, como por exemplo, parótides e insuficiência renal. Portanto para confirmação de pancreatite aguda deve-se medir adicionalmente a lipase.

MÉTODO

Teste fotométrico enzimático, no qual o substrato 4,6-Etilideno-(G7)-p nitrofenil-(G1)- α -D-maltoheptaosídeo (EPS-G7) é dividido pela alfa amilase em vários fragmentos. Em um segundo passo estes são mais hidrolizados pela α -glicosidade produzindo glicose e p-nitrofenol. O aumento na absorbância representa a atividade da amilase total (pancreática e salivar) na amostra.

PRINCÍPIO



(PNP = p-Nitrofenol, G = Glicose)

REAGENTES

Concentrações na mistura final

R1:	Tampão Good's	pH 7,15	0,1 mol/L
	NaCl		50 mmol/L
	MgCl ₂		10 mmol/L
	α -Glicosidase		≥ 2 KU/L
R2:	Tampão Good's	pH 7,15	0,1 mol/L
	EPS-G7 (4,6-etilideno-(G7)-p-nitrofenil (G1) – alfa1 d-maltoheptaosídeo)		1,6 mmol/L

ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes são estáveis até o prazo da data de validade, se a contaminação for evitada protegidos da luz e armazenado a 2-8°C. Não congelar os reagentes.

CUIDADOS E PRECAUÇÕES

1. A saliva e a pele contém alfa Amilase, portanto nunca pipetar com a boca e evitar contato dos reagentes com a pele.
2. O reagente contém Azida Sódica (0,95 g/L) como conservante. Não aspire! Evite contato com a pele e membranas da mucosa.
3. Tome as precauções necessárias para o manuseio de reagentes para laboratório.

GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS

Por favor, consulte os regulamentos locais.

PREPARO DO REAGENTE

Partida com Substrato

R1 e R2 estão prontos para o uso.

Partida com Amostra

Misturar 4 partes de R1 com 1 parte de R2 (Ex: 20 mL R1 + 5 mL R2) = monoreagente.

Estabilidade:	6 meses	a	2 – 8 °C
	4 semanas	a	15 – 25 °C

Proteger o monoreagente da luz!

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Solução NaCl 9 g/L.

Equipamento geral de laboratório.

AMOSTRA

Soro, Plasma heparinizado, EDTA ou Urina.

Estabilidade:

Soro / plasma:	7 dias	a	20 – 25° C
	7 dias	a	4 – 8° C
	1 ano	a	-20° C
Urina:	2 dias	a	20 – 25° C
	10 dias	a	4 – 8° C
	3 semanas	a	-20° C

Descartar amostras contaminadas.

PROCEDIMENTOS PARA O TESTE

Aplicações para sistemas automáticos estão disponíveis quando requisitadas ou em nosso site www.kovalent.com.br

Comprimento de onda	405 nm, Hg 405 nm
Caminho óptico	1 cm
Temperatura	37 °C
Medição	Contra o branco de reagente.

Partida com Substrato

	Branco	Soro / Plasma	Urina
Amostra	-	20 μ L	10 μ L
Reagente1	1000 μ L	1000 μ L	1000 μ L
Misturar, incubar por aproximadamente 1 min, e então adicionar:			
Reagente 2	250 μ L	250 μ L	250 μ L
Misturar, ler a absorbância após 2 min e disparar o cronômetro. Ler as absorbâncias após 1, 2 e 3 min.			

$$\Delta A/\text{min} = [\Delta A/\text{min Amostra}] - [\Delta A/\text{min Branco}]$$

Partida com Amostra

	Branco	Soro / Plasma	Urina
Amostra	-	20 μ L	10 μ L
Monorreagente	1000 μ L	1000 μ L	1000 μ L
Misturar, ler a absorbância após 2 min e disparar o cronômetro. Ler as absorbâncias após 1, 2 e 3 min.			

$$\Delta A/\text{min} = [\Delta A/\text{min Amostra}] - [\Delta A/\text{min Branco}]$$

CÁLCULO

A partir da leitura de absorbância calcule o $\Delta A/\text{min}$ e multiplique pelo fator correspondente abaixo:

$$\Delta A/\text{min} \times \text{fator} = \text{Atividade da Amilase [U/L]}$$

	Partida com substrato	Partida com amostra
Soro / Plasma	5670	4554
Urina	11250	9018

GARANTIA

O desempenho do produto é garantido se forem seguidos os procedimentos recomendados nas instruções de uso.

CARACTERÍSTICAS / DESEMPENHO

Faixa de medição:

O teste foi desenvolvido para determinar a atividade da alfa Amilase a uma absorbância máxima de $\Delta A/\text{min}$ de 0,350. Se os valores excederem a este limite a amostra deve ser diluída 1 + 10 com solução NaCl (9 g/L) e o resultado multiplicado por 11.

Especificidade / Interferências:

Nenhuma interferência foi observada por Ácido Ascórbico até 30 mg/dL, Bilirrubinas até 40 mg/dL e lipemia até 1000 mg/dL de Triglicérides. Hemoglobina interfere mesmo que em concentrações mínimas.

Sensibilidade / Limite de Detecção:

O limite mínimo de detecção é de 3 U/L.

Precisão (à 37 °C)

Precisão Intra-ensaio n = 20	Média [U/L]	DP [U/L]	CV [%]
Amostra 1	184	2,00	1,08
Amostra 2	398	2,67	0,67
Amostra 3	841	4,96	0,59

Precisão Inter-ensaio n = 20	Média [U/L]	DP [U/L]	CV [%]
Amostra 1	180	1,82	1,01
Amostra 2	383	3,74	0,97
Amostra 3	817	7,48	0,92

Somente para uso diagnóstico in vitro

Comparação de métodos:

Uma comparação entre Kovalent alfa Amilase (y) e um método de rotina recomendado (x) usando 51 amostras obteve-se os seguintes resultados:

$$y = 0,964x - 2,455 \text{ U/L}; r = 0,998$$

Uma comparação entre Kovalent alfa Amilase (y) e um teste disponível no mercado (x) usando 51 amostras obteve-se os seguintes resultados:

$$y = 1,031x - 3,613 \text{ U/L}; r = 0,994.$$












VALORES NORMAIS

	Mulheres	Homens
Soro / Plasma	< 100 U/L	< 100 U/L
Urina	< 447 U/L	< 491 U/L

REFERÊNCIAS

1. Lorentz K. alfa Amylase. In: Thomas L, editor. Clinical laboratory diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998.p.192-202.
2. Moss DW, Henderson AR. Digestive enzymes of pancreatic origin. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company;1999.p.689-98.
3. Kruse-Jarres JD, Kaiser C, Hafkenschied JC, Hohenwallner W, Stein W., Bohner J et al. Evaluation of a new alpha amylase assay using 4,6-ethylidene-(G7)-1-4-nitrophenyl-(G1)-alpha-D-maltoheptaoside as substrate. J Clin Chem Biochem 1989;27:103-13.
4. Lorentz K. Approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 9. IFCC method for alfa amylase (1,4-β-D-Glucan-4-glucanohydrolase, EC 3.2.1.1). Clin Chem Lab Med 1998;38:185-203.
5. Lorentz K. Routine α-amylase assay using protected 4-nitrophenyl-1,4-α-D-maltoheptaoside and a novel α-glucosidase. Clin Chem 2000;46:644-9.
6. Junge W, Wortmann W, Wilke B, Waldenstroem J et al. Development and evaluation of assays for determination of total and pancreatic amylase at 37 °C according to the principle recommended by the IFCC. Clin Biochem 2001;34:607-15.

Símbolos Usados

-  Fabricante
-  Limites de temperatura
-  Diagnóstico in vitro
-  Cuidado, consulte documentos anexos
-  Consulte instruções de uso
-  Material Reciclável
-  Não rejeitar diretamente para o ambiente
-  Lote
-  Data de Fabricação
-  Validade
-  Risco Biológico

INFORMAÇÕES AO CONSUMIDOR

Kovalent do Brasil Ltda.

Rua Cristóvão Sardinha, 110 – Jd. Bom Retiro
São Gonçalo – RJ – CEP 24722-350
www.kovalent.com.br
CNPJ: 04.842.199/0001-56
Farm. Resp.: Jorge A. Janoni
CRF: 2648-RJ

SAC: 21 2623-1367 - sac@kovalent.com.br

Data de Vencimento e N^o de Lote: VIDE EMBALAGEM