



Bioclin

AMILASE

REF K003

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Método para a determinação da atividade da Amilase. Teste colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Caraway Modificado - Cinética de tempo fixo
A amostra é incubada com um substrato de Amido. Pela adição do Iodo, o Amido ainda não hidrolisado adquire coloração azul que diminui proporcionalmente à atividade enzimática, sendo comparado com um controle.

REAGENTES

Reagente Nº 1 - Substrato - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Amido 0,4 g/L, Tampão Fosfato (pH 7,0) 100 mmol/L, estabilizante e conservante. O reagente em baixas temperaturas pode cristalizar. Neste caso, colocar o reagente (em sua embalagem original e bem vedado) em banho-maria 37°C agitando até completa dissolução dos cristais.

Reagente Nº 2 - Reagente de Cor - Solução Estoque de Iodo - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Iodo 50 mmol/L e estabilizante.

APRESENTAÇÃO

Reagente	Volume
Nº 1	50 mL
Nº 2	5 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Espectrofotômetro ou colorímetro, banho-maria 37°C, relógio ou cronômetro, pipetas, tubos de ensaio Biocontrol N e Biocontrol P 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 entre 15 e 30°C não deverá exceder a 72 (setenta e duas) horas. 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- O nível de água no banho-maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio.

6- Como o Reagente Nº 1 é facilmente contaminado por saliva recomendamos a utilização de máscaras, përas e pipetas automáticas.

7- É importante para o bom desempenho do teste, um rigoroso controle de tempo e temperatura.

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. Outros anticoagulantes (EDTA, Citrato, Oxalato) inibem a atividade da Amilase.

Urina - Coletar em intervalo de 2 a 24 horas.

A Amilase é estável no plasma, soro ou urina por 24 horas entre 15 e 30°C, e 2 meses entre 2 e 8°C.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

PREPARO DO REAGENTE DE TRABALHO

Transferir o conteúdo da ampola (Reagente Nº 2) para o frasco vazio que acompanha o kit. Em seguida, adicionar 45 mL de água destilada ou deionizada e homogeneizar. Manter o frasco bem vedado. Estável por 06 meses entre 2 e 8°C.

TÉCNICA

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

Marcar 2 tubos de ensaio: C (Controle), A (Amostra) e proceder como a seguir:

	Controle	Amostra
Reagente Nº 1	0,5 mL	0,5 mL
Colocar em banho-maria à 37°C por 2 minutos		
Amostra	--	10 µL
Homogeneizar e incubar à 37°C por exatamente 7 minutos e 30 segundos (cronometrados)		
Reagente de Trabalho	0,5 mL	0,5 mL
Água destilada ou deionizada	4,0 mL	4,0 mL

Homogeneizar bem e determinar as absorvâncias do Controle e da Amostra em 660 nm (620 a 700 nm), zerando o aparelho com água destilada ou deionizada. A cor é estável por 30 minutos.

Para dosagem na urina, medir o volume urinário coletado em um intervalo de 2 a 24 horas. Ajustar o pH entre 7,0 e 7,4 com Carbonato de Sódio (sólido) para urina ácida e com Fosfato Bícido de Potássio (KH₂PO₄) para urina alcalina. Proceder do mesmo modo descrito para o soro.

CÁLCULOS

Ac = Absorvância do Controle

Aa = Absorvância da Amostra

$$\text{Amilase (U/dL)} = \frac{Ac - Aa}{Ac} \times 800$$

Uma unidade de enzima é a quantidade que hidrolisa totalmente 10 mg de Amido em 30 minutos à 37°C.

Cálculo para dosagem na urina:

$$\text{Amilase (U/h)} = \frac{Ac - Aa}{Ac} \times \frac{\text{Volume Urinário (mL)}}{\text{Tempo de coleta (em horas)}} \times 8$$

Exemplo:

Absorvância do Controle Soro = 0,368

Absorvância da Amostra Soro = 0,320

Absorvância do Controle Urina = 0,380

Absorvância da Amostra Urina = 0,300

Tempo de Coleta: 12 horas

Volume: 900 mL

$$\frac{0,368 - 0,320}{0,368} \times 800 = 104 \text{ U/dL de Amilase}$$

$$\frac{0,380 - 0,300}{0,380} \times \frac{900 \times 8}{12} = 126 \text{ U/h de Amilase}$$

Quando o valor $\frac{Ac - Aa}{Ac}$ for maior do que 0,5, diluir a urina com solução de Cloreto de Sódio 0,85%, repetir o ensaio e multiplicar o resultado pelo fator de diluição. Os resultados serão expressos em U/dL.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

Como em toda reação enzimática, é de grande importância o controle do tempo e da temperatura de incubação. Uma diferença de 1 minuto no tempo de incubação acarreta um erro de 13% nos resultados.

INTERFERENTES

Amostras com hemólise produzem resultados falsamente diminuídos.

Anticoagulantes como EDTA, Citrato e Oxalato inibem a atividade da Amilase.

Valores de Bilirrubina até 20 mg/dL e hiperlipemia (Triglicérides até 1500 mg/dL) não interferem.

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.

VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores de referência em U/dL, para o presente método, foram obtidos através da determinação de Amilase em populações sadias do sexo masculino e feminino.

Todas as idades:

Soro: 60 a 160 U/dL

Urina: 50 a 140 U/h

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 de Amilase foi comparado com outros métodos para dosagem de Amilase. Foram realizadas 7 análises e os resultados foram avaliados. A equação linear obtida foi $Y = 0,993X + 1,126$ e o coeficiente de correlação 0,999. Com estes resultados pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

Precisão

REPETIBILIDADE

A repetibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (U/dL)	57,95	71,90	121,10
Desvio Padrão (U/dL)	0,76	0,79	0,91
Coefficiente de Variação (%)	1,31	1,10	0,75

REPRODUTIBILIDADE

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 20 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/dL)	58,08	71,90	121,02
Desvio Padrão (U/dL)	0,13	0,05	0,08
Coefficiente de Variação (%)	0,22	0,07	0,06

Sensibilidade

A sensibilidade foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra insenta de Amilase. A média encontrada foi 0,0039 U/dL com desvio padrão de 0,0001 U/dL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde à média mais 3 vezes o desvio padrão e é igual a 0,0042 U/dL.

Linearidade

A reação é linear até 400 U/dL. Para valores maiores, diluir a amostra com Cloreto de Sódio 0,85% e proceder a nova determinação. Multiplicar o resultado pelo fator de diluição.

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, também, observados no infarto mesentérico, úlcera gástrica perfurada, carcinoma de cabeça do pâncreas, caxumba, insuficiência renal e acidose diabética.

Níveis plasmáticos diminuídos são observados na hepatite, cirrose hepática, toxemia de gravidez, eclampsia e carcinoma pancreático.

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.

NÚMERO DE TESTES

100 Testes/ 10 μ L de Amostra/1 mL de Reagente

200 Testes/ 5 μ L de Amostra/ 500 μ L de Reagente

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1 - CARAWAY, W. T.: Amer J. Clin. Pathol, 1959, 32, 97.

2 - TONKS, D. B.: Clin. Chem., 1983, 9:217.

3 - HENRY, R. J.: Chemistry Technics 4° Ed. New York - Haper e Row, 1964, 498.

4 - HENRY, R. J. and CHIAMORI, N.: Clin. Chem., 1960, 6, 434.

5 - CARL, A. B. and EDWARD, R. A.: Tietz Textbook of Clinical Chem 2nd ed., 1994, 852-863.

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 0315454

E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro do kit Amilase na ANVISA: 10269360085

Revisão: Março/2013

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



INFLÂMVEL



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



Bioclin

AMILASA

REF K003

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Método para la determinación de actividad de la Amilasa. Test colorimétrico, solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Caraway Modificado - Cinética de tiempo fijo
La muestra es incubada con un substracto de Almidón. Por la adición del Yodo, el Almidón no hidrolizado adquiere coloración azul que disminuye proporcionalmente la actividad enzimática, siendo comparado con un control.

REACTIVOS

Número 1 - Sustrato - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Almidón 0,4 g/L, Tampón Fosfato (pH 7,0) 100 mmol/L, estabilizante y conservante. El reactivo en bajas temperaturas puede cristalizar. En este caso, colocar el reactivo (en su caja original y bien cerrado) en baño maría a temperaturas de 37°C agitando hasta la completa disolución de los cristales.

Número 2 - Reactivo de color - Solución Stock de Yodo - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Yodo 50 mmol/L y estabilizante.

PRESENTACIÓN

Reactivo	Volumen
Nº 1	50 mL
Nº 2	5 mL

EQUIPAMIENTOS E INSUMOS OPERACIONALES

Espectrofotómetro o colorímetro, baño maría (37°C), reloj o cronómetro, pipetas, tubos de ensayo Biocontrol N y Biocontrol P Bioclin. Se encuentran en el mercado especializado de artículos para Laboratorios de Análisis clínicos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento deberá ser de 2 a 8°C. El transporte en temperaturas entre 15 y 30°C, no deberá exceder a 72 (setenta y dos) horas. Mantener al abrigo de la luz y evitar humedad. **No congelar.**

CAUIDADOS 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 y sin agentes contaminados.
- 4- Columnas deionizadoras saturadas liberan agua alcalina, iones diversos y agentes oxidantes y reductores que pueden alterar de forma significativa los resultados.
- 5- El nivel de agua en el baño maría debe ser superior al nivel de los reactivos en el tubo de ensayo.
- 6- Como el Reactivo Nº 1 es fácilmente contaminado por saliva recomendamos la utilización de máscaras, peras y pipetas automáticas.
- 7- Es importante para el buen desempeño del test, un riguroso control del tiempo y temperatura.
- 8- Se recomienda la aplicación de las leyes locales, estatales y federales de protección ambiental para que el desecho de reactivos y materiales biológicos se haga de acuerdo a 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 hemolisis, plasma colectado con heparina. Otros anticoagulantes (EDTA, Citrato, Oxalato) inhiben la actividad de la Amilasa.

Orina - Recojer en el intervalo de 2 a 24 horas.

La Amilasa es estable en el plasma, suero o orina por 24 horas a temperaturas entre 15 y 30°C, y por 2 meses a temperaturas entre 2 y 8°C.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

PREPARO DEL REACTIVO DE TRABAJO

Transferir el contenido de la ampolla (Reactivo Nº 2) para el frasco vacío que acompaña el kit. En seguida, agregar 45 mL de agua destilada o deionizada y homogenizar. Mantener el frasco bien cerrado. Estable por 06 meses a temperaturas entre 2 y 8°C.

TÉCNICA

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

Marcar 2 tubos de ensayo: C (Control), M (Muestra), y proceder como sigue:

	Control	Muestra
Reactivo Nº 1	0,5 mL	0,5 mL
Colocar en baño maría a 37°C por 2 minutos		
Muestra	---	10 µL
Homogenizar y incubar a 37°C por exactamente 7 minutos y 30 segundos (cronometrados)		
Reactivo de Trabajo	0,5 mL	0,5 mL
Agua destilada o deionizada	4,0 mL	4,0 mL

Homogenizar bien y determinar las absorbancias del Control y de la Muestra en 660 nm (620 a 700 nm), ajustando el aparato con agua destilada o deionizada. El color es estable por 30 minutos. Para dosificación en la orina, medir el volumen orina colectado en un intervalo de 2 a 24 horas. Ajustar el pH entre 7,0 y 7,4 con Carbonato de Sodio (sólido) para orina ácida y con Fosfato Biácido de Potasio (KH₂PO₄) para orina alcalina. Proceder del mismo modo descrito para el suero.

CÁLCULOS

Ac = Absorbancia del Control

Aa = Absorbancia de la Muestra

$$\text{Amilasa (U/dL)} = \frac{\text{Ac} - \text{Aa}}{\text{Ac}} \times 800$$

Una unidad de enzima es la cantidad que hidroliza totalmente 10 mg de Almidón en 30 minutos a 37°C.

Cálculo para dosificar la orina:

$$\text{Amilasa (U/h)} = \frac{\text{Ac} - \text{Aa}}{\text{Ac}} \times \frac{\text{Volumen Orinario (mL)}}{\text{Tiempo de Colecta (en horas)}} \times 8$$

Ejemplo:

Absorbancia del Control Suero = 0,368

Absorbancia de la Muestra Suero = 0,320

Absorbancia del Control Orina = 0,380

Absorbancia de la Muestra Orina = 0,300

Tiempo de Colecta: 12 horas

Volumen: 900 mL

$$\frac{0,368 - 0,320}{0,380} \times 800 = 104 \text{ U/dL de Amilasa}$$

$$\frac{0,380 - 0,300}{0,380} \times \frac{900}{12} \times 8 = 126 \text{ U/h de Amilasa}$$

Cuando el valor $\frac{\text{Ac} - \text{Aa}}{\text{Ac}}$ fuera mayor que 0,5 diluir la orina con solución de Cloruro de Sodio 0,85%, repetir el ensayo y multiplicar el resultado por el factor de dilución.

Los resultados serán expresados en U/dL.

LIMITACIONES DEL PROCESO

Como en toda la reacción enzimática, es de gran importancia el control del tiempo y de la temperatura de incubación. Una diferencia de 1 minuto en el tiempo de incubación lleva a un error de 13% en los resultados.

INTERFERENTES

Muestras con hemólisis producen resultados falsamente disminuidos.

Anticoagulantes como EDTA, Citrato o Oxalato inhiben la actividad de la Amilasa.

Valores de Bilirrubina hasta 20 mg/dL e hiperlipemia (Triglicéridos hasta 1500 mg/dL) no interfieren.

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.

VALORES DE REFERENCIA

Los valores de referencia en U/dL, para el presente método, fueron obtenidos por la determinación de Amilasa en poblaciones sanas de sexo masculino y femenino.

Todas las edades:

Suero: 60 a 160 U/dL

Orina: 50 a 140 U/h

Estos valores deben ser usados como orientación, siendo que cada laboratorio determina su 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 MÉTODOS Y ESPECIFICIDAD METODOLÓGICA

El kit de Amilasa fue comparado con otro método para dosificación de Amilasa. Fueron realizadas 7 análisis y los resultados fueron evaluados. La ecuación lineal fue $Y = 0,993X + 1,126$ y el coeficiente de correlación 0,999. Con estos resultados, se puede concluir que el Kit presenta buena especificidad metodológica.

Precisión

REPETIBILIDAD

La repetibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Concentración Promedio (U/dL)	57,95	71,90	121,10
Desvío Patrón (U/dL)	0,76	0,79	0,91
Coefficiente de Variación (%)	1,31	1,10	0,75

REPRODUCTIBILIDAD

La reproductibilidad fue calculada a partir de 20 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/dL)	58,08	71,90	121,02
Desvío Patrón (U/dL)	0,13	0,05	0,08
Coefficiente de Variación (%)	0,22	0,07	0,06

Sensibilidad

La sensibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones de una muestra exenta de Amilasa. El promedio encontrado fue 0,0039 U/dL con desvío patrón de 0,0001 U/dL. La sensibilidad, que indica el límite de detección del método, corresponde al promedio más 3 veces el desvío patrón siendo igual a 0,0042 U/dL.

Linealidad

La reacción es lineal hasta 400 U/dL. Para valores mayores, diluir la muestra con Cloruro de Sodio 0,85% y proceder nueva determinación. Multiplicar el resultado por el factor de dilución.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

La Amilasa, predominantemente de origen pancreática y salivar, está normalmente presente en la sangre y orina en pequeñas cantidades.

Se eleva rápidamente en el plasma después del inicio de los síntomas de pancreatitis aguda, donde paralelamente se observa un aumento de la Amilasa Orinaria.

Valores aumentados son, también, observados en el infarto mesentérico, úlcera gástrica perforada, carcinoma de cabeza de páncreas, paperas, insuficiencia renal y acidosis diabética.

Niveles plasmáticos disminuidos son observados en hepatitis, cirrosis hepática, toxemia de embarazo, eclampsia y carcinoma pancreático.

Algunas drogas pueden interferir en los resultados laboratorio elevando los niveles séricos de Amilasa (Morfina, Meperidina, Codeína, Diuréticos Tiazídicos) o disminuyendo como en los casos de envenenamiento por Barbitúricos.

NÚMERO DE PRUEBAS

100 Pruebas/ 10 µL de Muestra/1 mL de Reactivo

200 Pruebas/ 5 µL de Muestra/ 500 µL de Reactivo

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- CARAWAY, W. T.: Amer J. Clin. P
- 2- TONKS, D.B.: Clin. Chem. 1983, 9: 217.
- 3- HENRY, R. J. : Chemistry Technics 4° Ed. New York – Haper e Row, 1964, 498.
- 4- HENRY, R. J. and CHIAMORI, N.: Clin. Chem., 1960, 6, 434.
- 5- CARL, A. B. and EDWARD, R. A.: Tietz Textbook of Clinical Chem 2nd. Ed.,1994, 852-863.

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 valides mencionada en el empaque de presentación, siempre que esten 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 - Indústria Brasileira



OBELIS S.A.

Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

ATENIMIENTO AL CONSUMIDOR

Servicio de Asesoría al Cliente
Tel.: 0800 031 5454
E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro del kit de Amilasa en la ANVISA: 10269360085

Revisión: Marzo/2013

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL



NÚMERO DEL CATÁLOGO



ELABORADO POR



NÚMERO DE LOTE



CONTROL



FECHA DE FABRICACIÓN



CONTROL POSITIVO



ESTABLE HASTA
(último día del mes)



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



Bioclin

AMYLASE

REF K003

USAGE INSTRUCTIONS

FUNCTION

Method for determination of Amylase activity. Colorimetric test for *in vitro* diagnostic only.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Caraway Modified - Fixed time Kinetic

The sample is incubated in a Starch substrate. By Iodine addition, the Starch still not hydrolyzed acquires a blue coloration that lowers proportionally to the enzymatic activity, being compared to a control.

REAGENTS

Number 1 - Substrate - Store between 2 and 8°C. Contains: Starch 0,4 g/L, Phosphate Buffer (pH 7,0) 100 mmol/L, stabilizer and preservative. The reagent in lower temperatures can crystallize. In this case, place the reagent (in its original packing well sealed) in water bath 37°C mixing until crystals dissolution is complete.

Number 2 - Color Reagent - Iodine Stock Solution - Store between 2 and 8°C. Contains: Iodine 50 mmol/L and stabilizer.

PRESENTATION

Reagent	Volume
Nº 1	50 mL
Nº 2	5 mL

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Spectrophotometers or colorimeter, water-bath 37°C, watch and stopwatch, pipettes, test tubes Biocontrol N and Biocontrol P Bioclin. They can be found at markets specialized in laboratories of clinical analysis.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The storage temperature should be between 2 to 8°C. The transport at temperatures between 15 and 30°C, not exceeding 72 hours. 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 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- The water level in water-bath must be higher than the reagent levels in the test tubes.

6- How the Reagent Nº 1 is easily contaminated by slobber, we recommend the use of masks, pump and automatic pipettes.

7- It is important for the well development of the test, a strict control over the time and temperature.

8- We recommend applying the local, state and federal regulations for environmental protection, so the disposal of reagents and biological material can be made in accordance with the 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 in the website www.bioclin.com.br or upon request to Bioclin's Customer Services.

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 collected with heparin. Other anticoagulants (EDTA, Citrate, Oxalate) inhibit the Amylase activity.

Urine - Collect in an interval of 2 to 24 hours.

The Amylase is stable in plasma, serum or urine for 24 hours between 15 and 30°C, and 2 months between 2 and 8°C.

PROCESS DESCRIPTION

WORK REAGENT PREPARATION

Transfer the ampoule content (Reagent Nº 2) to empty vessels contained in the kit. Next, add 45 mL of distilled or deionized water and homogenize it. Keep it sealed. Stable per 06 months between 2 and 8°C.

TECHNIQUE

Bioclin recommends, as control serum, Biocontrol N and P Bioclin Kits.

Mark 2 test tubes: C (control), A (sample) and proceed as following:

	Control	Sample
Reagent Nº 1	0,5 mL	0,5 mL
Put in water bath at 37°C per 2 minutes.		
Sample	---	10 µL
Homogenize and incubate at 37°C for exactly 7 minutes and 30 seconds (chronometered).		
Work Reagent	0,5 mL	0,5 mL
Distilled or Deionized Water	4,0 mL	4,0 mL

Homogenize well and determinate the absorbencies of Control and Sample at 660 nm (620 to 700 nm), initializing the instrument with distilled or deionized water. The color is stable per 30 minutes. For urine dosage, measure urine volume collected in an interval of 2 to 24 hours. Adjust the pH between 7,0 and 7,4 with Sodium Carbonate (solid) for acid urine and with Biacid Potassium Phosphate (KH₂PO₄) for alkaline urine. Proceed in the same way for serum.

CALCULATIONS

Ac = Absorbance Control

Aa = Absorbance of Sample

$$\text{Amylase (U/dL)} = \frac{\text{Ac} - \text{Aa}}{\text{Ac}} \times 800$$

An enzyme unit is the quantity that hydrolyzes totally 10 mg of Starch in 30 minutes at 37°C.

Calculation for urine dosage:

$$\text{Amylase (U/h)} = \frac{\text{Ac} - \text{Aa}}{\text{Ac}} \times \frac{\text{Urine Volume (mL)}}{\text{Collection Time (hours)}} \times 8$$

Example:

Serum Control Absorbance = 0,368

Serum Sample Absorbance = 0,320

Urine Control Absorbance = 0,380

Urine Sample Absorbance = 0,300

Collection Time : 12 hours

Volume: 900 mL

$$\frac{0,368 - 0,320}{0,368} \times 800 = 104 \text{ U/dL of Amylase}$$

$$\frac{0,380 - 0,300}{0,380} \times \frac{900}{12} \times 8 = 126 \text{ U/h of Amylase}$$

When the value $\frac{\text{Ac} - \text{Aa}}{\text{Ac}}$ is higher than 0,5, dilute the urine with the Sodium Chloride solution 0,85%, repeat the essay and multiply the result by the dilution factor.

The results are expressed in U/dL.

PROCEDURE LIMITATIONS

As in every enzymatic reaction, it is of great importance the control of time and temperature of the incubation. The difference of 1 minute in the incubation time carry an error of 13% in the results.

INTERFERENCES

Samples with hemolysis produce results wrongly reduced.

Anticoagulants such as EDTA, Citrate and Oxalate inhibit the amylase activity.

Bilirubin values up to 20 mg/dL and hyperlipemia (triglycerides up to 1500 mg/dL) do not interfere.

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.

REFERENCE VALUES

The reference values in U/dL, for this method were obtained through the determination of Amylase in healthy populations of male and female.

Of all ages:

Serum: 60 to 160 U/dL

Urine: 50 to 140 U/h

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 kit was compared with other commercially available methods for measurement of Amylase. 7 analyses were performed and the results were evaluated. The linear equation obtained was $Y = 0,993X + 1,126$ and the correlation coefficient 0,999. With these results, we can conclude that the kit shows good methodological specificity.

Precision**REPEATABILITY**

The repeatability was calculated from 20 successive determinations, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Average Concentration (U/dL)	57,95	71,90	121,10
Standard Deviation (U/dL)	0,76	0,79	0,91
Coefficient of Variation (%)	1,31	1,10	0,75

REPRODUCIBILITY

The reproducibility was calculated from 20 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/dL)	58,08	71,90	121,02
Standard Deviation (U/dL)	0,13	0,05	0,08
Coefficient of Variation (%)	0,22	0,07	0,06

Sensitivity

The sensitivity was calculated from twenty (20) determinations of a sample free of Amylase. The average found was 0,0039 U/dL with standard deviation of 0,0001 U/dL. The sensitivity, indicated by the method detection limit, corresponds the average plus 3 times the standard deviation and is equal to 0,0042 U/dL.

Linearity

The reaction is linear until 400 U/dL. For higher values, dilute the sample with Sodium Chloride 0,85% and proceed with the new determination. Multiply the result by the dilution factor.

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

The Amylase, predominantly of pancreatic and salivary origin, is normally present in blood and in urine in smaller quantities. Raises quickly in plasma after the beginning of symptom of acute pancreatitis, where, parallel to it can be observed the increase of the Urinary Amylase.

Increased values are also, observed in mesentery infarction, perforated gastric ulcers, carcinoma of the pancreas head, mumps, kidney insufficiency and diabetes acidosis.

Plasmatic levels reduced are observed in hepatitis, hepatic cirrhosis, pregnancy toxemia, eclamps and pancreatic carcinoma. Some drugs can interfere in the laboratorial results, elevating the serum levels of Amylase (Morphine, Meperidine, Codeine, Thyazide Diuretics) or reducing, as in the Barbituric poisoning cases.

NUMBER OF TESTS

100 Tests/10 μ L of Sample/ 1 mL of Reagent

200 Tests/ 5 μ L of Sample/ 500 μ L of Reagent

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

- 1 - CARAWAY, W. T.: Amer J. Clin. Pathol, 1959, 32, 97.
- 2 - TONKS, D. B.: Clin. Chem., 1983, 9:217.
- 3 - HENRY, R. J.: Chemistry Technics 4° Ed. New York - Haper e Row, 1964, 498.
- 4 - HENRY, R. J. and CHIAMORI, N.: Clin. Chem., 1960, 6, 434.
- 5 - CARL, A. B. and EDWARD, R. A.: Tietz Textbook of Clinical Chem 2nd ed., 1994, 852-863.

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

 **OBELIS S.A.**

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 kit: 10269360085

Review: March/2013

UNIVERSAL SYMBOLOGY

CATALOG NUMBER



MANUFACTURED BY



BATCH CODE



CONTROL



DATE OF MANUFACTURE



POSITIVE CONTROL



USED BY
(last day of month)



NEGATIVE CONTROL



TEMPERATURE LIMITATION
(store at)



BIOLOGICAL RISK



CONTAINS SUFFICIENT
FOR <N> TESTS



INFLAMMABLE



CONSULT INSTRUCTIONS
FOR USE



CORROSIVE



IN VITRO DIAGNOSTIC DEVICE



POISON



EUROPEAN AUTHORIZED
REPRESENTATIVE



CE MARK



KEEP AWAY
FROM SUNLIGHT



DO NOT USE IF
PACKAGE IS
DAMAGED