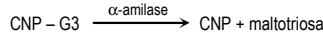


CODE 11583 5 x 5 mL	CODE 11550 6 x 25 mL
CONSERVAR A 2-8°C	
Reagentes para medir a concentração de $\alpha$ -amilase Só para uso <i>in vitro</i> nos laboratórios clínicos	



## FUNDAMENTO DO MÉTODO

A  $\alpha$ -amilase cataliza a hidrólise de 2-cloro-4-nitrofenil-maltotriósido (CNP-G3) a 2-cloro-4-nitrofenol (CNP). A concentração catalítica determina-se a partir da velocidade de formação do 2-cloro-4-nitrofenol, medido a 405 nm<sup>1,2,3</sup>.



## CONTEÚDO

	COD 11583	COD 11550
A. Reagente	5 x 5 mL	6 x 25 mL

## COMPOSIÇÃO

A. Reagente. MES 50 mmol/L, cloreto de cálcio 5 mmol/L, cloreto de sódio 300 mmol/L, tiocianato de sódio 450 mmol/L, CNP-G3 2,25 mmol/L, pH 6,1.

## CONSERVAÇÃO

Conservar a 2-8°C.

O Reagente é estável até à data de caducidade indicada na etiqueta, desde que se conserve bem fechado e se evite a contaminação durante o seu uso.

Indicações de deterioração:

- Reagente: Presença de partículas, turvação, absorvância do branco superior a 0,500 a 405 nm (cuvete de 1 cm).

## PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Reagente (A): Está pronto para o seu uso.

## EQUIPAMENTO ADICIONAL

- Analizador, espectrofotómetro ou fotómetro com cuvette termostatizada a 25, 30 ou 37°C para leituras a 405 nm
- Cuvetes de 1,0 cm de passo de luz

## AMOSTRAS

Soro, plasma ou urina recolhidos mediante procedimentos standard.

A  $\alpha$ -amilase no soro ou plasma é estável durante 1 mês a 2-8°C. Deve utilizar-se a heparina como anticoagulante.

A  $\alpha$ -amilase na urina é estável durante 1 mês a 2-8°C desde que o pH se ajuste aproximadamente a 7 para a conservação.

## PROCEDIMENTO

- Pré-aquecer o Reagente e o equipamento à temperatura de reacção.
- Pipetar numa cuvette (Notas 1, 2):

	Soro/Plasma		Urina	
	37°C	25°C,30°C	37°C	25°C,30°C
Reagente (A)	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Amostra	20 $\mu$ L	50 $\mu$ L	10 $\mu$ L	20 $\mu$ L

- Misturar e inserir a cuvette no fotómetro. Ligar o cronómetro.
- Apointar a absorvância inicial e efectuar novas leituras cada minuto durante 3 minutos.
- Calcular a razão do incremento da absorvância por minuto ( $\Delta A/\text{min}$ ).

## CÁLCULOS

A concentração da  $\alpha$ -amilase na amostra calcula-se a partir da seguinte fórmula geral:

$$\Delta A/\text{min} \times \frac{Vt \times 10^6}{\epsilon \times l \times Vs} = U/L$$

O coeficiente da absorção molar ( $\epsilon$ ) de CNP a 405 nm é 15.490 e o passo de luz ( $l$ ) é 1 cm. Para amostras de soro e plasma, o volume total de reacção ( $Vt$ ) é 1,02 a 37°C e 1,05 a 25-30°C enquanto que o volume da amostra ( $Vs$ ) é 0,02 a 37°C e 0,05 a 25-30°C. Para amostras de urina, o volume total de reacção ( $Vt$ ) é 1,01 a 37°C e 1,02 a 25-30°C, e o volume de amostra ( $Vs$ ) é 0,01 a 37°C e 0,02 a 25-30°C. 1 U/L equivale a 0,0166  $\mu$ kat/L. Deduzem-se os seguintes factores para calcular a concentração catalítica:

		37°C	25-30°C
$\Delta A/\text{min}$	Soro, plasma	x 3292 = U/L x 54,9 = $\mu$ kat/L	x 1355 = U/L x 22,6 = $\mu$ kat/L
	Urina	x 6520 = U/L x 108,7 = $\mu$ kat/L	x 3292 = U/L x 54,9 = $\mu$ kat/L

## VALORES DE REFERÊNCIA

Temperatura reacção	Soro, plasma		Urina	
	U/L	$\mu$ kat/L	U/L	$\mu$ kat/L
25°C	12-45	0,21-0,75	< 180	< 3,00
30°C	17-60	0,28-1,00	< 240	< 4,00
37°C <sup>4,5</sup>	22-80	0,37-1,33	< 321	< 5,35

Os valores a 25°C e a 30°C foram obtidos a partir dos 37°C utilizando um factor de conversão. Estes valores dão-se unicamente a título orientativo; é recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios intervalos de referência.

## CONTROLE DE QUALIDADE

Recomenda-se o uso dos Soros Controle de Bioquímica níveis I (Cod. 18005, 18009 e 18042) e II (Cod. 18007, 18010 e 18043) para verificar a funcionalidade do procedimento de media.

Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio programa de Controle de Qualidade interno, assim como procedimentos de correcção como em casos em que os controles não cumpram com as tolerâncias aceitáveis.

## CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

Limite de detecção: 1,8 U/L = 0,03  $\mu$ kat/L.

Limite de linearidade: 1317 U/L = 22  $\mu$ kat/L, no soro e 2600 U/L = 43,5  $\mu$ kat/L na urina. Quando se obtêm valores superiores, diluir a amostra 1/5 com água destilada e repetir a medição.

Repetibilidade (intraensaio):

Concentração média	CV	n
64 U/L = 1,07 $\mu$ kat/L	1,8 %	20
338 U/L = 5,63 $\mu$ kat/L	0,5 %	20

Reproductibilidade (interensaio):

Concentração média	CV	n
64 U/L = 1,07 $\mu$ kat/L	3,5 %	25
338 U/L = 5,63 $\mu$ kat/L	1,0 %	25

Sensibilidade: 0,304  $\Delta$ mA·L/U·min = 18,2  $\Delta$ mA·L/ $\mu$ kat·min.

Veracidade: Os resultados obtidos com estes reagentes não mostram diferenças sistemáticas significativas quando comparados com reagentes de referência. Os detalhes do estudo comparativo estão abaixo disponíveis.

Interferências: A lipemia (triglicéridos 10 g/L) e a bilirrubina (20 mg/dL) não interferem. A hemoglobina (2,5 g/L) interfere. Outros medicamentos e substâncias podem interferir<sup>6,7</sup>.

Estes dados foram obtidos utilizando um analizador. Os resultados podem variar ao mudar de equipamento ou ao realizar-se o procedimento manualmente.

## CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

A  $\alpha$ -amilase cataliza a hidrólise dos enlaces  $\alpha$ -1,4 dos carboidratos constituídos por unidades de  $\alpha$ -D-glucose, originando a formação de dextranos, maltose e glucose. A  $\alpha$ -amilase produz-se principalmente no pâncreas exócrino (tipo-P) e nas glândulas salivares (tipo-S) ainda que também se encontrem nos tecidos.

A medição da actividade da amilase no soro e urina tem utilidade principalmente para o diagnóstico de doenças pancreáticas como a pancreatite crónica ou aguda. A hiperamilasemia também pode ser devida à insuficiência renal, dor abdominal aguda, tumor nos pulmões e ovários, lesões nas glândulas salivares, macroamilasemia, cetoacidose diabética, doença do trato biliar, trauma cerebral, alcoolismo crónico e medicamentos (opiáceos)<sup>6,7</sup>.

O diagnóstico clínico não se deve realizar tendo em conta o resultado de um unico teste, mas deve integrar-se nos dados clínicos e de laboratório.

## NOTAS

- A saliva e a pele contém  $\alpha$ -amilase. Não pipetar o reagente com a boca e evitar o contacto do reagente com a pele.
- Este reagente pode utilizar-se na maioria dos analisadores automáticos. Solicite informação ao seu distribuidor.

## BIBLIOGRAFIA

- Winn-Deen ES, David H, Sigler G and Chavez R. Development of a direct assay for  $\alpha$ -amylase. *Clin Chem* 1988; 34: 2005-2008.
- Gella FJ, Gubern G, Vidal R, Canalias F. Determination of total and pancreatic  $\alpha$ -amylase in human serum with 2-chloro-4-nitrophenyl- $\alpha$ -D-maltotriósido as substrate. *Clin Chim Acta* 1997; 259: 147-160.
- Gubern G, Balsells D, Ferragut R, Galán A, Gella FJ, et al. Procedimiento recomendado para la determinación en rutina de la concentración catalítica de  $\alpha$ -amilasa en suero sanguíneo humano. *Quim Clin* 1996; 15: 51-52.
- Balsells D, Gella FJ, Gubern G, Canalias F. Reference values for  $\alpha$ -amylase in human serum and urine using 2-chloro-4-nitrophenyl- $\alpha$ -D-maltotriósido as substrate. *Clin Chim Acta* 1998; 274: 213-217.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1999.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.