

## Alfa Amilase VET

Alpha Amylase VET / Alfa Amilase VET  
 Ref. 90.018.00

Responsável Técnico:  
 Dr. Gilson Sério Pizzo  
 CRF MG - 5310

### FINALIDADE

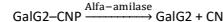
Kit destinado à determinação da atividade da enzima Alfa Amilase em amostras de soro e plasma. Uso em diagnóstico veterinário *in vitro*.

### CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO, MANUSEIO E PREPARO DO PRODUTO

- Conservar de 2 a 8 °C, permanecendo fora da temperatura especificada somente o tempo necessário para a realização dos testes. Manter ao abrigo da luz.
- Reagente pronto para uso.
- Após aberto, o produto em uso é estável por 30 dias, desde que seguidas as condições de armazenamento recomendadas (2 a 8 °C).
- Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.

### PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO

Método: Cinético (CNP)  
 O substrato GalG2-CNP (2-cloro-4-nitrofenil-galacto-maltodíose) é hidrolisado pela alfa-amilase da amostra produzindo cloronitrofenol (CNP). A atividade enzimática é determinada pela velocidade de formação do CNP, que pode ser espectrofotometricamente determinado em 405 nm.



### AMOSTRAS: TIPO, COLETA, MANUSEIO E PRESERVAÇÃO

Tipo de Amostra: soro e plasma heparina.

Coleta e Manuseio: realizar a coleta da amostra conforme as Boas Práticas de Laboratório Clínico. Todas as amostras devem ser tratadas como material biológico potencialmente infectante.

### Preservação:

	Temperatura	Período de Estabilidade
Soro e Plasma*	4 a 8 °C	7 dias
	-20 °C	1 ano

\*Para das dosagens manuais em amostras de cães e gatos, diluir previamente a amostra na proporção de 1:10 com solução de NaCl 0,9%. Multiplicar o resultado obtido por 10.

### DESCRIÇÃO DO PRODUTO

**R 1** Tampão MES > 20 mM; Tiocianato de potássio > 100mM; GalG2-CNP > 2 mM; ativadores; detergentes; conservante.

A determinação da atividade da Alfa-amilase é rastreável à absorvidade específica do cromógeno CNP utilizando pipetas calibradas e espectrofotômetro manual que fornecem valores absolutos.

### CONTROLE DE QUALIDADE

O uso de controles deve ser prática rotineira no laboratório. Para Calibração e Controle Interno de Qualidade Laboratorial, recomenda-se o uso do calibrador e dos controles abaixo:

Calibrador - Autocal Vet	90.039.00
Controle Normal - Quantinorm Vet	90.040.00
Controle Patológico - Quantilat Vet	90.041.00

### MATERIAL NECESSÁRIO PARA REALIZAÇÃO DO ENSAIO

- Espectrofotômetro ou fotômetro para leitura em 405 nm.
- Banho de água termostatizado a 37 °C e tubos de ensaio.
- Pipetas de vidro e/ou automáticas, relógio ou cronômetro.

### PROCEDIMENTO DE ENSAIO, CÁLCULOS E INTERPRETAÇÃO

#### A) PROCEDIMENTO DE ENSAIO

1. Pré-aquecer o reagente (R1) durante 3 minutos a 37 °C.
2. Pipetar em tubos de ensaio:

	Amostra
Amostra	10 µL
R1	1,0 mL

3. Homogeneizar e inserir no porta-cubetas termostatizado a 37 °C, zerado com água purificada em 405nm. Acionar o cronômetro.

4. Após 1 minuto, anotar a absorbância inicial A<sub>0</sub> e efetuar novas leituras a cada minuto, durante 3 minutos, (A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> e A<sub>3</sub>, respectivamente).

#### B) CÁLCULOS

Utilizando as leituras das absorbâncias, calcular a média da variação da absorbância por minuto ( $\Delta A/min$ ):

$$\Delta A/min = (A_1 - A_0) + (A_2 - A_1) + (A_3 - A_2)$$

5. A atividade da Alfa-amilase na amostra é calculada pela multiplicação do  $\Delta A/min$  pelo seguinte fator:

Exemplo:

$$\text{Alfa-amilase (U/L)} = \Delta A/min \times 6520$$

Leituras de Absorbância			
A <sub>0</sub>	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>
0,200	0,207	0,214	0,220

$$\Delta A/min = (0,207 - 0,200) + (0,214 - 0,207) + (0,220 - 0,214) = 0,007$$

3

$$\text{Alfa-amilase (U/L)} = 0,007 \times 6520 = 45,64 \text{ U/L}$$

**Automação:** Este procedimento pode ser aplicado na maioria dos analisadores automatizados. Os protocolos estão disponíveis em [www.biotechnica.ind.br](http://www.biotechnica.ind.br).

#### C) INTERPRETAÇÃO

A alfa-amilase é uma enzima da classe das hidrolases que catalisa a hidrólise das ligações 1,4- $\alpha$ -glicosídicas em polissacarídeos. A atividade da amilase presente no soro urinário tem origens pancreática e da glândula salivar, aumentando muito na pancreatite aguda e na inflamação desta glândula. Valores aumentados também são encontrados em vários desordens intra-abdominais agudas, como obstrução intestinal, falha renal, obstrução urinária, e em diversas condições extra-hepáticas e em doenças neoplásicas. Algumas drogas podem causar pancreatite, e consequente hiperamilasemia. A alteração de amilase não é um bom meio de avaliação de pancreatite em felinos. Nessa espécie deve-se lançar mão de exames complementares.

#### D) CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Intervalo Operacional
3,87 a 1513,80 U/L

Para valores acima do intervalo operacional, diluir a amostra com NaCl 150 mM (0,9%), realizar nova dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

Sensibilidade
Limite de Quantificação
3,85 U/L

Especificidade Analítica			
Espécies	Hemoglobina	Bilirrubina	Triglicerídeos
Caníns	500 mg/dL	40 mg/dL	1250 mg/dL
Felinos	300 mg/dL	18 mg/dL	750 mg/dL
Equinos	500 mg/dL	40 mg/dL	2000 mg/dL
Bovinos	500 mg/dL	40 mg/dL	2000 mg/dL

Concentrações de substâncias interferentes até os valores apresentados acima não causam alterações significativas nos resultados. Para medicamentos, consultar a referência bibliográfica recomendada (Young, 2000).

#### E) EXATIDÃO - CANÍNS

Número de Amostras	40 em duplicata
Equação de Regressão	y = 1,0052x - 0,7122

Coeficiente de Correlação (R)	0,9991
Exatidão - Felinos	

Número de Amostras	20 em duplicata
Equação de Regressão	y = 0,9958x + 25,273

Coeficiente de Correlação (R)	0,9972
Exatidão - Equinos	

Número de Amostras	11 em duplicata
Equação de Regressão	y = 1,0057x + 1,5388

Coeficiente de Correlação (R)	0,9991
Exatidão - Bovinos	

Número de Amostras	10 em duplicata
Equação de Regressão	y = 0,9693x + 2,1735

Coeficiente de Correlação (R)	0,9970
Precisão:	

Os estudos foram realizados em duas corridas e em 20 replicatas.

Amostras (U/L)	Número de amostras	Precisão Intra-ensaio		Amostras (U/L)	Número de amostras	Precisão Inter-ensaio	
		SD (U/L)	CV (%)			SD (U/L)	CV (%)
236,87	20	3,11	1,30	235,41	40	3,73	1,60
1102,02	20	41,10	3,70	1090,67	40	36,99	3,40

CV: Coeficiente de variação; SD: Desvio padrão.

#### RISCOS RESIDUAIS, CUIDADOS E PRECAUÇÕES

- Utilizar os EPI's e realizar os procedimentos de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico.
- Seguir os requisitos preconizados nas Boas Práticas de Laboratório Clínico para a água utilizada no Laboratório.
- Não misturar reagentes de lotes diferentes ou trocar as tampas dos frascos, a fim de evitar contaminação cruzada. Não usar o reagente quando ele apresentar característica visual em desacordo com o especificado na FISPOQ do produto.
- Evite deixar os reagentes fora das condições de armazenamento especificadas.
- O nível de água do banho-maria deve ser superior ao dos tubos de ensaio que contêm as reações.

#### INTERVALO DE REFERÊNCIA

Caníns	185 - 700 U/L
Felinos	< 500 U/L
Bovinos	< 31 U/L
Equinos	75 - 150 U/L

Estes valores são unicamente para orientação, sendo recomendável que cada laboratório estableça seu próprio intervalo de referência.

#### CONVERSÃO PARA UNIDADE DO SISTEMA INTERNACIONAL (µKat/L):

$$\text{Alfa-Amilase (U/L)} \times 0,017 = \text{Alfa-Amilase (µKat/L)}$$

#### QUALITY CONTROL

The use of controls should be a routine practice in the laboratory. For the internal laboratorial quality control, it is recommended the use of the calibrator and controls below:

Calibrator - Autocal Vet	90.039.00
Normal Control - Quantinorm Vet	90.040.00
Pathological Control - Quantilat Vet	90.041.00

REF

90.039.00  
90.040.00  
90.041.00

#### NECESSARY EQUIPMENT FOR TESTING

##### A) TEST PROCEDURE

1. Heat the reagent (R1) at 37 °C for 3 minutes.
2. Pipette in the test tubes:

Sample
10 µL
1.0 mL

3. Homogenize and insert into the cuvette holder thermostated at 37 °C, zeroed with purified water at 405nm. Set the stopwatch.

4. After 1 minute, measure the initial absorbance A<sub>0</sub> and read it again every minute, for 3 minutes (A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> and A<sub>3</sub>, respectively).

#### B) CALCULATIONS

Using the measured absorbances, calculate the mean variation of absorbance per minute ( $\Delta A/min$ ):

$$\Delta A/min = (A_1 - A_0) + (A_2 - A_1) + (A_3 - A_2)$$

3

The Alpha-Amylase activity is calculated by multiplying the  $\Delta A/min$  by the factor below:

$$\text{Alpha-Amilase (U/L)} = \Delta A/min \times 6520$$

#### C) INTERPRETATION

Alpha-amylase is an enzyme of the hydrolases class that catalyzes the hydrolysis of 1,4- $\alpha$ -glycosidic bonds in polysaccharides. The amylase activity present in serum and urine has pancreatic and salivary gland origins, increasing greatly in acute pancreatitis and inflammation of this gland. Increased values are also found in several acute intra-abdominal disorders, such as intestinal obstruction, renal failure, urinary obstruction, and in several extrahepatic conditions and in neoplastic diseases. Some drugs can cause pancreatitis, and consequent hyperamylasemia. Amylase alteration is not a good means of evaluating pancreatitis in cats. In this species, complementary exams should be used.

#### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Operating range
3.87 to 1513.80 U/L

For concentrations above the operating range, dilute the sample with NaCl 150 mM (0,9%), proceed with a new dosage and multiply the result by the dilution factor.

Sensitivity
Quantification Limit

$$3.85 \text{ U/L}$$

Analytical Specificity
Species
Canines
Felines
Equines
Bovines

Interfering substances up to the values presented above do not cause significant alterations in the results. For drugs, consult the recommended reference (Young, 2000).

Accuracy - Canines

Accuracy - Equines	
Number of Samples	11 em duplicata
Regression Equation	y = 1.0057x + 1.5388
Correlation Coefficient (R)	0.9991
Accuracy - Bovines	
Number of Samples	10 em duplicata
Regression Equation	y = 0.9693x + 2.1735
Correlation Coefficient (R)	0.9970

#### Precision:

Determined with two runs in 20 replicates.

Samples (U/L)	Number of samples	Within-Run Precision		Samples (U/L)	Number of samples	Total Precision	
		SD (U/L)	CV (%)			SD (U/L)	CV (%)
236,87	20	3,11	1,30	235,41	40	3,73	1,60
1102,02	20	41,10	3,70	1090,67	40	36,99	3,40

CV: Coefficient of variation; SD: Standard deviation

#### RESIDUAL RISKS, WARNINGS AND PRECAUTIONS

- Use protective equipment in accordance with the Good Laboratory Practices.
- Follow the Good Laboratory Practices' instructions to establish the quality of water.
- Do not mix reagents from different lots or exchange the caps from different reagents in order to avoid cross contamination. Do not use the reagent if it displays any signs in disagreement with the ones specified in the product MSDS.
- Avoid leaving reagents outside the specified storage conditions.
- The level of the water bath must be greater than that of the test tubes containing the reaction.

#### REFERENCE RANGES

Canine	185 - 700 U/L
Feline	< 500 U/L
Bovine	< 31 U/L
Equine	75 - 150 U/L

These values are intended for orientation only. It is recommended that each laboratory establishes its own reference ranges.

#### Conversion to the International System of Units ( $\mu$ Kat/L):

Alpha-amylase (U/L)  $\times 0,017$  = Alpha-amylase ( $\mu$ Kat/L)

#### WARNINGS AND PRECAUTIONS

- Discard the reactions surplus, according to the Good Laboratory Practices, in a proper place for potentially infectious material.
- The information for Disposal, Security and First Aid are described in the Manual Safety Data Sheet (MSDS) of this product, available at [www.biotechnica.ind.br](http://www.biotechnica.ind.br) or calling +55 35 3214 4646

#### QUALITY ASSURANCE / CUSTOMER TECHNICAL SERVICE

All Biotécnica products are made according to the Good Manufacturing Practices and other current sanitary regulations. Their performance is assured as long as all Biotécnica instructions are followed. In case of doubt while using the product, contact our Scientific Advisory team by calling +55 35 3214 4646, your local distributor or sending an e-mail to [sac@biotechnicaltda.com.br](mailto:sac@biotechnicaltda.com.br).

#### ESPAÑOL

#### FINALIDAD

Kit destinado a la determinación de Alfa Amilasa en muestras de suero y plasma. Uso en diagnóstico veterinario *in vitro*.

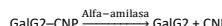
#### CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Conserver de 2 a 8 °C, permaneciendo fuera de la temperatura especificada solamente el tiempo necesario para la realización de los ensayos. Mantener al abrigo de la luz.
- Reactivos listo para uso.
- Después de abierto, el producto es estable por 30 días, desde que almacenado en las condiciones recomendadas (2 a 8 °C).
- No usar reactivos cuya fecha de vencimiento haya expirado.

#### PRINCIPIO DEL MÉTODO

Método: Cinético (CNPG)

La alfa amilasa cataliza la hidrólisis del sustrato GalG2-CNP (2-cloro-4-nitrofenil)- $\beta$ -1,4-galactopiranósilmaltoósido) en clorotriptófeno (CNP). La actividad enzimática se determina por la velocidad de aparición de CNP, que es es espectrofotométricamente determinado en 405 nm



#### MUESTRAS: TIPO, RECOLECCIÓN, MANIPULACIÓN Y CONSERVACIÓN

Tipo de Muestra: suero y plasma de heparina.

Recolección y manipulación: realizar la recolección de muestras de acuerdo con las Buenas Prácticas del Laboratorio Clínico. Todas las muestras deben ser tratadas como materiales potencialmente infectantes.

#### Conservación:

Suero y Plasma*	Temperatura	Período de Estabilidad
	4 a 8 °C	7 días
	-20 °C	1 año

\* Para la medición manual en muestras de perros y gatos, diluir previamente la muestra en proporción 1:10 con una solución de NaCl 0,9%. Multiplicar el resultado obtenido por 10.

#### DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO



R 1

Buffer MES > 20 mM; potassium thiocyanate > 100mM; GalG2-CNP > 2 mM; activadores; detergentes; preservativo.



La determinación de la actividad de alfa amilasa es rastreable a la absorción molar específica del cromógeno CNP utilizando pipetas calibradas y espectrofotómetro manual que producen valores absolutos.

#### CONTROL DE CALIDAD

El uso de controles debe ser práctica rutinera en el laboratorio. Para Calibración y Control Interno de Calidad del laboratorio se recomienda el uso del calibrador y de los controles siguientes:



Calibrador - Autocal Vet  
Control Normal - QuantiNorm Vet  
Control Patológico - Quantialt Vet

90.039,00  
90.040,00  
90.041,00

#### MATERIAL NECESARIO PARA REALIZAR EL ENSAYO

- Espectrofotómetro o fotómetro para lectura en 405 nm.
- Baño de agua termostático a 37 °C y tubos de ensayo.
- Pipetas de vidrio y/o automáticas, reloj o cronómetro.

#### PROCEDIMIENTO DE ENSAYO, CÁLCULOS E INTERPRETACIÓN

##### A) PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

- Preentalar el reactivo (R1) durante 3 minutos a 37 °C.
- Pipetea en tubos de ensayo:

Muestra	10 $\mu$ L
R1	1,0 mL

- Homogeneizar e inserir en el porta cubetas termostabilizado a 37 °C, ajustando a cero el aparato con agua purificada en 405 nm. Accionar el cronómetro.
- Después de 1 minuto, medir la absorbancia inicial  $A_0$  y realizar nuevas lecturas a cada minuto, durante 3 minutos ( $A_1$ ,  $A_2$  e  $A_3$ , respectivamente).

##### B) CÁLCULOS

Usando las lecturas de las absorbancias, calcular la media de variación de absorbancia por minuto ( $\Delta A/\text{min}$ ):

$$\Delta A/\text{min} = \frac{(A_1 - A_0) + (A_2 - A_1) + (A_3 - A_2)}{3}$$

La actividad de alfa amilasa en la muestra es calculada por la multiplicación del  $\Delta A/\text{minuto}$  por el siguiente factor:

$$\text{Alfa Amilasa (U/L)} = \Delta A/\text{min} \times 6520$$

**Automación:** Este producto es automatizado en la mayoría de los analizadores. Los protocolos están disponibles en [www.biotechnica.ind.br](http://www.biotechnica.ind.br)

#### C) INTERPRETACIÓN

La alfa-amilasa es una enzima de la clase de las hidrolasas que cataliza la hidrólisis de los enlaces 1,4  $\alpha$ -glucosídicos en los polisacáridos. La actividad de la amilasa presente en suero y orina tiene origen pancreático y de las glándulas salivales, aumentando mucho en la pancreatitis aguda y la inflamación de esta glándula. También se encuentran valores aumentados en varios trastornos intraabdominales agudos, como obstrucción intestinal, insuficiencia renal, obstrucción urinaria, y en varias afecciones extrahepáticas y en enfermedades neoplásicas. Algunos fármacos pueden causar pancreatitis y la consiguiente hiperamilasemia. La alteración de la amilasa no es un buen medio para evaluar la pancreatitis en gatos. En esta especie se deben utilizar exámenes complementarios.

#### CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

Intervalo Operacional
3,87 a 1513,80 U/L

Para valores superiores al del intervalo operacional, diluir la muestra con NaCl 150 mM (0,9%), realizar nuevo ensayo y multiplicar el resultado por el factor de dilución.

Sensibilidad
3,85 U/L

Especies	Especificidad Analítica		
	Hemoglobina	Bilirrubina	Triglicéridos
Caninos	500 mg/dL	40 mg/dL	1250 mg/dL
Felinos	300 mg/dL	18 mg/dL	750 mg/dL
Equinos	500 mg/dL	40 mg/dL	2000 mg/dL
Bovinos	500 mg/dL	40 mg/dL	2000 mg/dL

Concentraciones de substancias interferentes hasta los valores presentados anteriormente no provocan cambios significativos en los resultados. Para medicamentos, consultar la referencia recomendada (Young, 2000).

Exactitud - Caninos	
Número de Muestras	40 en duplicado
Ecuación de Regresión	y = 1,0052x - 0,7122
Coeficiente de Correlación (R)	0,9991
Exactitud - Felinos	
Número de Muestras	20 en duplicado
Ecuación de Regresión	y = 0,9958x + 25,273
Coeficiente de Correlación (R)	0,9972
Exactitud - Equinos	
Número de Muestras	11 en duplicado
Ecuación de Regresión	y = 1,0057x + 1,5388
Coeficiente de Correlación (R)	0,9991
Exactitud - Bovinos	
Número de Muestras	10 en duplicado
Ecuación de Regresión	y = 0,9693x + 2,1735
Coeficiente de Correlación (R)	0,9970

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS/REFERENCES/REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- WINN-DEEN, E.S. et al. Development of a direct assay for amylase. *Clin. Chem.* v.34, n.10, p.2005-2008, 1988.
- RAUSCHER, E. et al. Optimized conditions for determining activity concentration of  $\alpha$ -amylase in serum, 1,4-D-4-nitrophenylmaltoheptoside as substrate. *Clin. Chem.*, v.31, n.1 p.14-19, 1985
- YOUNG, D.S. *Effects of drugs on clinical laboratory tests - vol. 2*, 5 ed. Washington DC: AACC Press, 2000.
- WESTGARD, J.O. et al. A multi-rule shewhart chart quality control in clinical chemistry. *Clin. Chem.* v.27 p.493-501, 1981.
- KANEKO, Jiro J.; HARVEY, John W.; BRUSS, Michael L. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5th. ed. San Diego: Academic Press, c1997 932p.
- THRAL, Mary Anna. *Hematologia e bioquímica clínica veterinária*. São Paulo: Roca, 2007. 582 p.
- KERR, Morag G. Exames laboratoriais em medicina veterinária: *bioquímica clínica e hematologia*. 2. ed. São Paulo: Roca, 2003. 436 p.
- DUNCAN, J. Robert; PRASSE, Keith W. *Patología clínica veterinaria*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. 217p.
- BUSH, B. M. *Manual do laboratório veterinário de análise clínicos*. Zaragoza: Acribia, 1982. 467p.
- Stockham, Steven L., Scott, Michael A. *Fundamentals of veterinary clinical pathology*. Blackwell Publishing, 2008.
- WILLARD, Michael D; TVEDTEN, Harold; TURNWALD, Grant H. *Small animal clinical diagnosis by laboratory methods*. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994. 377p.
- COLES, Embert H; GOMES E NASCIMENTO, Sonia Cardoso de Aguiar; NASCIMENTO, Fernando Gomes do. *Patología clínica veterinaria*. 3. ed. São Paulo: Manole, 1984. 566p.

#### TABELA DE SÍMBOLOS INTERNACIONAIS / TABLE OF INTERNATIONAL SYMBOLS / TABLA DE SÍMBOLOS INTERNACIONALES

	Consultar las instrucciones para utilización Consult instructions for use Consulte las instrucciones de uso		Descartar correctamente Dispose properly Desechar adecuadamente
	Número de catálogo Catalog number Número de catálogo		Reagente Reagent Reactivo
	Código do lote/Partida Batch code Código de lote		Límite de temperatura Temperature limitation Límite de temperatura
	Produto para a saúde para diagnóstico <i>in vitro</i> In Vitro Diagnostic medical device Produto sanitário para diagnóstico <i>in vitro</i>		Data limite de utilização (último dia do mês) Use by (last day of the month) Estable hasta (último día del mes)
	Data de Fabricação Manufacturing Fabricación		Nocivo / Irritante Harmful / Irritant Nocivo / Irritante