

# α-Amylase EPS ver.2

## α-amilase, método EPS, versão 2

### Informações para encomenda

COBAS INTEGRA α-Amylase EPS ver.2	300 Testes	Ref. 03183742 122 System-ID 07 6609 7
Calibrator f.a.s.	12 × 3 mL	Ref. 10759350 190
Calibrator f.a.s. (para EUA)	12 × 3 mL	Ref. 10759350 360 System-ID 07 3718 6
Precinorm U	20 × 5 mL	Ref. 10171743 122 System-ID 07 7997 0
Precipath U	20 × 5 mL	Ref. 10171778 122 System-ID 07 7998 9
Precinorm U plus	10 × 3 mL	Ref. 12149435 122
Precinorm U plus (para os EUA)	10 × 3 mL	Ref. 12149435 160 System-ID 07 7999 7
Precipath U plus	10 × 3 mL	Ref. 12149443 122
Precipath U plus (para os EUA)	10 × 3 mL	Ref. 12149443 160 System-ID 07 8000 6
COBAS INTEGRA Cleaner Cassette	150 Testes	Ref. 20764337 322 System-ID 07 6433 7

● Indica em que analisador(es) pode ser utilizado o suporte de reagentes cobas c pack

COBAS INTEGRA 400/400 plus	COBAS INTEGRA 700	COBAS INTEGRA 800
●	●	●

### Informações do sistema

COBAS INTEGRA α-Amylase EPS ver.2 (AMYL2).  
 Teste AMYL2, ID do teste 0-609 (soro, plasma).  
 Teste AMYU2, ID do teste 0-509 (urina).

### Função

Teste in vitro para a determinação quantitativa da actividade catalítica da α-amilasa (EC 3.2.1.1; 1,4-α-D-glucano: glucanohidrolase) em soro, plasma e urina nos sistemas COBAS INTEGRA.

### Sumário<sup>1,2,3,4,5,6,7,8,9</sup>

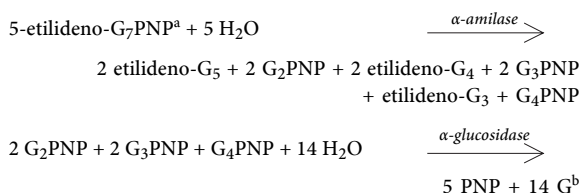
As α-amilases (1,4-α-D-glucanohidrolases, EC 3.2.1.1) catalisam a degradação hidrolítica dos hidratos de carbono poliméricos como a amilose, a amilopectina e o glicogénio mediante clivagem das ligações 1,4-α-glucosídicas. Nos polissacáridos e nos oligossacáridos, diversas ligações glicosídicas são hidrolisadas simultaneamente. Apesar de ser a mais pequena unidade hidrolisada, a maltotriose só é convertida muito lentamente em maltose e glicose. Existem dois tipos distintos de α-amilases: tipo pancreático (tipo P) e tipo salivar (tipo S). Enquanto a α-amilase de tipo P é atribuída quase exclusivamente ao pâncreas e, logo, é específica do órgão, a de tipo S tem origem em diversos locais. Além de se encontrar na saliva, existe também nas lágrimas, no suor, no leite materno, no líquido amniótico, nos pulmões, nos testículos e no epitélio das trompas de falópio.

Devido à raridade de sintomas clínicos específicos das doenças pancreáticas, as determinações da α-amilase têm uma importância considerável nos diagnósticos pancreáticos. Estas determinações são utilizadas sobretudo no diagnóstico e monitorização terapêutica da pancreatite aguda. Além de ocorrer na pancreatite aguda e na fase inflamatória da pancreatite crónica, também se pode observar uma hiperamilasemia em casos de insuficiência renal (como resultado de filtração glomerular reduzida), bem como nos tumores dos pulmões ou dos ovários, inflamação pulmonar, doenças das glândulas salivares, cetoadicose diabética, traumatismo craniano, intervenções cirúrgicas e

macroamilasemia. Para confirmar a especificidade pancreática, recomenda-se que seja também determinada uma outra enzima específica do pâncreas: a lipase ou a α-amilase pancreática. Foram descritos diversos métodos para determinação da α-amilase que determinam a redução da quantidade de substrato por viscometria, turbidimetria, nefelometria e amiloclastia ou através da formação de um produto de degradação, sacarogénico ou cinético, através de reacções sucessivas catalisadas por enzimas. O método cinético aqui descrito baseia-se na clivagem bem conhecida de 4,6-etilideno-(G<sub>7</sub>)-1,4-nitrofenil-(G<sub>1</sub>)-α,D-maltoheptaosido (Etylidene Protected Substrate = EPS) pela α-amilase e hidrólise subsequente de todos os produtos de degradação em p-nitrofenol com a ajuda da α-glucosidase (libertação de cromóforo 100%). Os resultados destes métodos estão correlacionados com os obtidos por HPLC.

### Princípio do teste<sup>10,11</sup>

Ensaio colorimétrico enzimático de acordo com IFCC. Oligossacáridos definidos, como o 4,6-etilideno-(G<sub>7</sub>) p-nitrofenil-(G<sub>1</sub>)-α,D-maltoheptaosido (etilideno-G<sub>7</sub>PNP), são separados pela acção catalítica da α-amilase. Os fragmentos G<sub>2</sub>PNP, G<sub>3</sub>PNP e G<sub>4</sub>PNP assim formados são completamente hidrolisados em p-nitrofenol e glucose pela α-glucosidase. Esquema da reacção simplificado:



- a) PNP ≙ p-nitrofenol
- b) G ≙ Glucose

A intensidade da cor do p-nitrofenol formado é directamente proporcional à actividade da α-amilase. É determinada medindo o aumento da absorvância a 409 nm.

## INTEGRA 400/700/800

**Reagentes - soluções de trabalho**

Componentes	Concentrações			Test
	R1	R2 = SR		
HEPES	52,4	52,4	49,1	mmol/L
Cloreto de sódio	87		68	mmol/L
Cloreto de cálcio	0,08		0,06	mmol/L
Cloreto de magnésio	12,6		9,8	mmol/L
$\alpha$ -glucosidase (microbiana)	$\geq 66,8$		$\geq 52,3$ ( $\geq 3,1$ )	$\mu$ kat/L kU/L
Etilideno-G <sub>7</sub> -PNP		22	3,4	mmol/L
pH (37°C)	7,00	7,00	7,00	

Ambos os reagentes contêm detergentes e estabilizantes não reactivos.

**Avisos e precauções**

Preste atenção a todos os avisos e precauções incluídos na Introdução do Capítulo 1 deste folheto informativo.

**Preparação dos reagentes**

Pronto a ser utilizado.

**Armazenamento e estabilidade**

Validade a 2-8°C Consultar o prazo de validade no rótulo do suporte de reagentes cobas c pack

Sistemas COBAS INTEGRA 400/400 plus  
No analisador a 10-15°C 12 semanas

Analisadores COBAS INTEGRA 700/800  
No analisador a 8°C 12 semanas

**Colheita e preparação das amostras<sup>9,12</sup>**

Para colheita e preparação das amostras, utilize apenas tubos ou cuvetes de amostra apropriados.

Apenas as amostras indicadas em seguida foram testadas e consideradas aceitáveis.

Soro.

Plasma: Plasma tratado com heparina (Li, Na, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) ou EDTA (K<sub>2</sub>, K<sub>3</sub>).

Os valores de plasma tratado com EDTA são aproximadamente 5-10% inferiores aos valores séricos.

Os tipos de amostras indicados foram testados usando tubos de colheita de amostras seleccionados e comercialmente disponíveis à data do teste, i.e. nem todos os tubos dos diferentes fabricantes disponíveis no mercado foram testados. Os sistemas de colheita de amostras de diferentes fabricantes podem, por sua vez, conter materiais diferentes que, em alguns casos, podem afectar os resultados dos testes. Se utilizar amostras em tubos primários (sistemas de colheita de amostras), consulte as instruções do fabricante dos tubos.

Urina: Colha a urina sem aditivos. A  $\alpha$ -amilase é instável em urina ácida. Analisar de imediato ou ajustar o pH para o intervalo alcalino (ligeiramente superior ao pH 7) antes de guardar.<sup>13</sup>

Estabilidade no soro:<sup>13</sup>  
7 dias a 15-25°C  
1 mês a 2-8°C

Estabilidade na urina:<sup>14</sup>  
2 dias a 15-25°C  
10 dias a 2-8°C

As amostras que contêm precipitado têm de ser centrifugadas antes da realização do ensaio.

**Materiais fornecidos**

Consulte a secção "Reagentes - soluções de trabalho".

**Materiais necessários (mas não fornecidos)**

COBAS INTEGRA Cleaner Cassette, Ref. 20764337, System-ID 07 6433 7. Recomendam-se ciclos de lavagem suplementares sempre que determinadas combinações de testes sejam

executadas em conjunto nos sistemas COBAS INTEGRA.

Para mais informações sobre combinações de testes que requerem ciclos de lavagem suplementares, consulte o Capítulo 1, Introdução, Parte III.

**Realização do ensaio**

Para assegurar a correcta execução do ensaio, é importante cumprir as instruções fornecidas neste documento para o analisador utilizado. Consulte o manual do operador apropriado para obter informações mais específicas sobre o ensaio feito no analisador.

**Aplicação para soro, plasma e urina****Analisadores COBAS INTEGRA 400/400 plus - Definição do teste**

Modo de medida	Absorvância
Modo de cálculo da abs.	Cinético
Modo de reacção	R1-S-SR
Sentido da reacção	Aumento
Comprimento de onda A/B	409/659 nm
Primeiro/último cálc.	50/69
Unidade	U/L

**Parâmetros de pipetagem**

Soro, plasma e urina	Diluyente (H <sub>2</sub> O)	
R1	100 $\mu$ L	
Tamanho	4 $\mu$ L	4 $\mu$ L
SR	20 $\mu$ L	
Volume total	128 $\mu$ L	

**Analisadores COBAS INTEGRA 700/800 - Definição do teste**

Modo de medida	Absorvância
Modo de cálculo da abs.	Cinético
Modo de reacção	R1-S-SR
Sentido da reacção	Aumento
Comprimento de onda A/B	409/659 nm
Primeiro/último cálc.	73/98
Unidade	U/L

**Parâmetros de pipetagem**

Soro, plasma e urina	Diluyente (H <sub>2</sub> O)	
R1	100 $\mu$ L	
Tamanho	4 $\mu$ L	4 $\mu$ L
SR	20 $\mu$ L	
Volume total	128 $\mu$ L	

**Calibração**

Calibrador	Calibrador f.a.s. Utilize água desionizada como calibrador zero.
Modo de calibração	Regressão linear
Repetição da calibração	Duplicado recomendado
Intervalo de calibração	Cada lote e conforme necessário, segundo os procedimentos de controlo de qualidade

Rastreabilidade: Este método foi padronizado manualmente contra reagente Roche (de acordo com IFCC).

**Controlo da qualidade**

Controlo da qualidade	Precinorm U ou Precinorm U plus
Soro, plasma	Precipath U ou Precipath U plus
Controlo de qualidade para urina	Para o controlo da qualidade em rotina, recomendam-se controlos quantitativos de urina.
Intervalo de controlo	24 horas (recomendado)
Seqüência de controlo	Definida pelo utilizador
Controlo após calibração	Recomendado

Para o controlo da qualidade, utilize os materiais de controlo indicados na secção "Informações para encomenda". Adicionalmente pode ser utilizado outro material de controlo adequado.

Os intervalos e limites de controlo devem ser adaptados às exigências específicas de cada laboratório. Os valores obtidos devem situar-se dentro dos limites definidos.

Cada laboratório deve estabelecer as medidas correctivas a tomar no caso de os valores se situarem fora dos limites.

#### Cálculo dos resultados

Os sistemas COBAS INTEGRA calculam automaticamente a concentração do analito de cada amostra. Para mais informações, consulte a secção Análise de Dados, no Capítulo 7 do Manual do Utilizador (analisador COBAS INTEGRA 700), ou a Análise de dados da ajuda Online (analisadores COBAS INTEGRA 400/400 plus/800).

Factor de conversão:  $U/L \times 0,0167 = \mu\text{kat/L}$

#### Limitações – interferências<sup>15</sup>

Não pipete com a boca e certifique-se de que o reagente não entra em contacto com a pele. (Saliva e suor contêm  $\alpha$ -amilase!)

Critério: Recuperação dentro de  $\pm 10\%$  do valor inicial.

#### Soro, plasma

**Icterícia** Nenhuma interferência significativa até a um índice I de 52 (concentração aproximada de bilirrubina conjugada: 889  $\mu\text{mol/L}$  ou 52 mg/dL). Sem interferência significativa com bilirrubina não conjugada.

**Hemólise** Nenhuma interferência significativa até um índice H de 260 (concentração aproximada de hemoglobina: 161  $\mu\text{mol/L}$  ou 260 mg/dL).

**Lipemia** Sem interferência significativa.

**Anticoagulantes** Observaram-se interferências com citrato e fluoreto.<sup>12</sup>

**Outras** Os fármacos baseados na icodextrina podem dar origem a valores de amilase diminuídos.<sup>16</sup> Em casos muito raros, a gamapatia, em particular a de tipo IgM (macroglobulinemia de Waldenstroem), pode produzir resultados pouco fiáveis.

Quando o objectivo é o diagnóstico, os resultados devem ser sempre interpretados em conjunto com a história clínica do paciente, o exame clínico e outros resultados.

#### Intervalo de medição

##### Soro/plasma/urina

3-2000 U/L (0,05-33  $\mu\text{kat/L}$ )

##### Intervalo de medição alargado (calculado)

Factor pós-diluição: 5 (recomendado)

3-10.000 U/L (0,05-167  $\mu\text{kat/L}$ )

##### Limite de detecção inferior

3 U/L (0,05  $\mu\text{kat/L}$ )

O limite de detecção representa o nível de analito mais baixo mensurável passível de ser distinguido de zero. É calculado como o valor situado 3 desvios padrão (DP) acima de uma amostra zero (amostra zero + 3 DP, precisão intra-ensaio, n = 21).

#### Valores de referência<sup>9</sup>

Soro, plasma	28-100 U/L	(0,47-1,7 $\mu\text{kat/L}$ )
Urina espontânea	$\leq 460$ U/L	( $\leq 7,7$ $\mu\text{kat/L}$ )
Urina de 24 horas <sup>c</sup>	$\leq 410$ U/24 h	( $\leq 6,82$ $\mu\text{kat}/24$ h)
quociente de $\alpha$ -amilase/creatinina	$\leq 310$ U/g	( $\leq 5,17$ $\mu\text{kat}/\text{mmol}$ )

c) Valores calculados

#### quociente de $\alpha$ -amilase/creatinina

Para permitir flutuações da actividade da  $\alpha$ -amilase na urina, é aconselhável determinar o quociente  $\alpha$ -amilase/creatinina. Para isso, é necessário determinar a actividade da  $\alpha$ -amilase e a concentração de creatinina na urina espontânea.

$$\text{Quociente [U/g ou } \mu\text{kat}/\text{mmol}] = \frac{\text{a-amilase [U/L or } \mu\text{kat/L}]}{\text{creatinina [g/L ou mmol/L]}}$$

#### Rácio amilase/clearance da creatinina (RACC)<sup>13</sup>

A RACC é calculada a partir da actividade da  $\alpha$ -amilase e da concentração da creatinina. As amostras de soro e de urina devem ser colhidas na mesma altura.

$$\text{ACCR [\%]} = \frac{\text{Amilase na urina [U/L]} \times \text{creatinina sérica [mg/L]}{\text{Amilase sérica [U/L]} \times \text{creatinina na urina [mg/L]}} \times 100$$

A ACCR é aproximadamente igual a 2-5%.

Cada laboratório deve verificar a transferibilidade dos valores de referência para a sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar os seus próprios intervalos de referência.

#### Dados específicos sobre o desempenho para o soro e plasma

São apresentados a seguir dados representativos do desempenho dos analisadores COBAS INTEGRA. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

#### Precisão

A reprodutibilidade foi determinada utilizando amostras humanas e controlos num protocolo interno (intra-ensaio n = 21, inter-ensaio n = 21). Obtiveram-se os seguintes resultados:

	Nível 1	Nível 2
Média	76 U/L (1,3 $\mu\text{kat/L}$ )	192 U/L (3,2 $\mu\text{kat/L}$ )
CV intra-ensaio	1,4%	1,2%
Média	73 U/L (1,2 $\mu\text{kat/L}$ )	181 U/L (3,0 $\mu\text{kat/L}$ )
CV inter-ensaio	1,4%	1,4%

#### Comparação dos métodos

Os valores de  $\alpha$ -amilase das amostras de soro e plasma humanas obtidos no analisador COBAS INTEGRA 700 com o reagente COBAS INTEGRA  $\alpha$ -Amylase EPS ver.2 (AMYL2) foram comparados com os valores determinados com o mesmo reagente utilizado no analisador Roche/Hitachi 917 e com o reagente anterior (AMYLL) no analisador COBAS INTEGRA 700.

#### Analisador Roche/Hitachi 917

Tamanho da amostra (n) = 64

Passing/Bablok<sup>17</sup>  
 $y = 0,98x + 0,51$  U/L

$\tau = 0,987$

DP (md 95) = 5,57

Regressão linear  
 $y = 1,00x - 1,28$  U/L  
 $r = 1,000$

$Sy.x = 5,59$

Os valores variaram entre 22 e 1.900 U/L (0,37 e 31,7  $\mu\text{kat/L}$ ).

#### Analisador COBAS INTEGRA 700

Tamanho da amostra (n) = 64

Passing/Bablok<sup>17</sup>  
 $y = 0,98x + 1,72$  U/L

$\tau = 0,982$

DP (md 95) = 12,22

Regressão linear  
 $y = 0,97x + 3,01$  U/L  
 $r = 1,000$

$Sy.x = 5,71$

Os valores variaram entre 22 e 1.930 U/L (0,37 e 32,2  $\mu\text{kat/L}$ ).

**Dados específicos sobre o desempenho para a urina**

São apresentados a seguir dados representativos do desempenho dos analisadores COBAS INTEGRA. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

**Precisão**

A reprodutibilidade foi determinada utilizando amostras humanas e controles num protocolo interno (intra-ensaio n = 21, inter-ensaio n = 21). Obtiveram-se os seguintes resultados:

	Nível 1	Nível 2
Média	39,4 U/L (0,66 µkat/L)	201 U/L (3,4 µkat/L)
CV intra-ensaio	0,8%	0,4%
Média	36,7 U/L (0,61 µkat/L)	189 U/L (3,2 µkat/L)
CV inter-ensaio	1,0%	1,0%

**Comparação dos métodos**

Os valores de α-amilase das amostras de urina humana obtidos no analisador COBAS INTEGRA 700 com o reagente COBAS INTEGRA α-Amylase EPS ver.2 (AMYL2) foram comparados com os valores determinados com o mesmo reagente utilizado no analisador Roche/Hitachi 917 e com o reagente anterior (AMYLL) no analisador COBAS INTEGRA 700.

**Analisador Roche/Hitachi 917**

Tamanho da amostra (n) = 59

Passing/Bablok<sup>17</sup>

$$y = 0,98x - 0,32 \text{ U/L}$$

$$\tau = 0,988$$

$$DP (\text{md } 95) = 17,3$$

Os valores variaram entre 0,66 e 1.767 U/L (0,01 e 29,5 µkat/L).

Regressão linear

$$y = 0,99x - 1,03 \text{ U/L}$$

$$r = 1,000$$

$$Sy.x = 6,54$$

**Analisador COBAS INTEGRA 700**

Tamanho da amostra (n) = 59

Passing/Bablok<sup>17</sup>

$$y = 0,96x + 0,54 \text{ U/L}$$

$$\tau = 0,991$$

$$DP (\text{md } 95) = 18,6$$

Os valores variaram entre 0,64 e 1.853 U/L (0,01 e 30,9 µkat/L).

Regressão linear

$$y = 0,95x + 1,92 \text{ U/L}$$

$$r = 1,000$$

$$Sy.x = 6,28$$

**Bibliografia**

- Greiling H, Gressner AM, eds. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3rd ed. Stuttgart/New York: Schattauer Verlag 1995.
- Keller H, ed. Klinisch-chemische Labordiagnostik für die Praxis, 2nd ed. Stuttgart/New York: Georg Thieme Verlag 1991:354-361.
- Salt WB II, Schenker S. Amylase - its clinical significance: a review of the literature [Review]. *Medicine* 1976;55:269-281.
- Steinberg WM, Goldstein SS, Davies ND et al. Diagnostic assays in acute pancreatitis [Review]. *Ann Intern Med* 1985;102:576-580.
- Tietz NW, Huang WY, Rauh DF et al. Laboratory tests in the differential diagnosis of hyperamylasemia. *Clin Chem* 1986;32:301-307.
- Junge W, Troge B, Klein G et al. Evaluation of a New Assay for Pancreatic Amylase: Performance Characteristics and Estimation of Reference Intervals. *Clin Biochem* 1989;22:109-114.
- Rauscher E et al. *Fresenius Z Analyt Chem* 1986;324:304.
- Kruse-Jarres JD, Hafkenscheid JCM, Hohenwallner W et al. Evaluation of a New α-Amylase Assay Using 4,6-Ethylidene-(G7)-1-4-nitrophenyl-(G1)-α-D-maltoheptaoside as Substrate. *J Clin Chem Clin Biochem* 1989;27:103-113.
- Junge W, Wortmann W, Wilke B et al. Development and evaluation of assays for the determination of total and

pancreatic amylase at 37°C according to the principle recommended by the IFCC. *Clin Biochem* 2001;34:607-615  
Erratum *Clin Biochem* 2003; 36:161.

- Lorentz, K. Approved Recommendation on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes. Part 9. IFCC Method for α-Amylase (1,4-α-D-Glucan 4-Glucanohydrolase, EC 3.2.1.1). *Clin Chem Lab Med* 1998;36:185-203.
- Kurrle-Weitenhiller A, Hölzel W, Engel D et al. Method for the determination of total and pancreatic α-amylase based on 100% cleavage of the protected substrate ethylidene-4-nitrophenyl-maltoheptaoside. *Clin Chem* 1996;42(S6):S98.
- Young DS. Effects of preclinical variables on clinical laboratory tests. AACC Press, 1997, 2nd ed.
- Tietz NW, ed. *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Company 1995:46-51.
- Hohenwallner W, Hägele EO, Scholer A et al. *Ber Öster Ges Klin Chem* 1983; 6:101-112.
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. *Clin Chem* 1986;32:470-474.
- Gokal R et al. Metabolic and laboratory effects of icodextrin. *Kidney International, Supp.* 81. 2002;62:62-71.
- Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988;26:783-790.

As alterações ou os acréscimos significativos estão assinalados por uma barra de alteração na margem.  
©2007 Roche Diagnostics.



Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

