

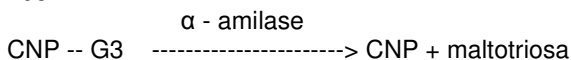
<b>Inserir o nome do Laboratório</b>	<b>Procedimento Operacional Padrão QUIMIAMIL – AMILASE II</b>	<b>Página 1 de 3 POP BIOxxx/xx</b>
--------------------------------------	---	--

### USO

Reação cinética para determinação quantitativa de amilase em amostras de soro, plasma e urina humanas. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

### PRINCÍPIO

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 405nm.



### AMOSTRA.

**Amostra:** Soro e Plasma heparinizado e Urina

**Armazenamento e estabilidade pré analítico :** A amilase na amostra de soro ou plasma é estável por 7 dias em temperatura ambiente e 1 mês entre 2 – 8°C.

Amostras de urina são estáveis por 7 dias quando armazenadas a 2 - 8°C, sendo necessário ajustar o pH a 7 (com NaOH), dado que o pH ácido inativa a enzima irreversivelmente.

Todas as amostras são consideradas potencialmente infectantes, portanto sugerimos manuseá-las seguindo as normas estabelecidas de Biossegurança.

**Preparo do paciente:** Soro: É recomendado um jejum de 4 horas. Todavia, poderá ser modificado seguindo orientação médica.

Urina: Não há preparo específico.

### PRODUTO UTILIZADO

Quimiamil – Amilase MS: 10159820166

Fabricante: Ebram Produtos Laboratoriais Ltda.

Rua Julio de Castilhos, 500.

Belenzinho – São Paulo –SP – Brasil - CEP: 03059-001

Para maiores informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM:

Tel. (011) 2291-2811 ou [sac@ebram.com](mailto:sac@ebram.com)

### EQUIPAMENTOS

#### • Procedimento Manual

Espectrofotômetro ou fotômetro com cubeta termostaticada 37°C para leituras a 405 nm.

Cubetas ou fluxo contínuo com 1.0 cm de passo óptico

Banho-Maria 37°C

Pipetas calibradas ou dispensador automático para reagentes e amostras

#### • Procedimento Automatizado

*Indicar o nome, modelo e o local onde se encontra o equipamento analisador automatizado, fazendo referência ao manual ( ou POP ) para utilização do mesmo*

#### • Procedimento alternativo

*Indicar o equipamento alternativo e os respectivos procedimentos para medição dos ensaios. Enumerar as diferenças esperadas quando procedimentos manuais substituem automatizados.*

### CONTROLE DE QUALIDADE

Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e ações corretivas. Deve-se manter também um sistema definido para se monitorar a variação analítica do sistema de medição. Aconselhamos o uso dos soros controle Quimicontrol Normal e Quimicontrol Anormal Ebram Cód. 12024/7024 e 12031/7031.

### PROCEDIMENTO

#### • Procedimento Manual

1. Em 1 tubo de ensaio acrescentar 1 mL de reagente e pré aquecê-lo por 1 minuto em banho - maria (BM) a 37° C. O nível de água no BM deve ser superior ao nível de reagentes nos tubos de ensaio.

2. Zerar o espectrofotômetro a 405 nm com água destilada.

3. Cuidadosamente, adicionar 20µL do soro controle/amostra (soro) no tubo correspondente, homogeneizar e deixar em BM a 37°C. Acionar o cronômetro.

<b>Inserir o nome do Laboratório</b>	<b>Procedimento Operacional Padrão QUIMIAMIL – AMILASE II</b>	<b>Página 1 de 3 POP BIOxxx/xx</b>
--------------------------------------	---	--

4. Registrar a absorbância inicial (A1) e as absorbâncias A2, A3 e A4 quando completar 1, 2 e 3 minutos respectivamente.
5. Determinar as duas diferenças de absorbância/min ( $\Delta$  Abs/min), subtraindo cada leitura de sua anterior.
6. Determinar a média das diferenças de absorbância ( $\Delta$  Abs/min). Proceder em seguida do mesmo modo com todas as amostras.

Nota: Realizar a incubação das amostras e soro controle individualmente.

Obs.: Procedimento sugerido para espectrofotômetros que requerem volume mínimo de 1,0 mL e podem ser ajustados proporcionalmente sem influência no desempenho do teste. Salientamos que volumes de amostra menores do que 10  $\mu$ L aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

- **Procedimento Automatizado**

Aplicação no sistema automatizado: vide manual para utilização do equipamento e instruções de uso do reagente.

Aplicação no sistema semi-automático: Em um tubo de ensaio acrescentar 1,0 mL de reagente, adicionar 20  $\mu$ L de amostras/soro controle. Ler imediatamente no equipamento, preparar também um tubo contendo pelo menos 0,50 mL de reagente (os equipamentos no início do procedimento, solicitam que seja introduzido o reagente para verificação da absorbância do reagente), seguir protocolo analítico específico baseado no item Parâmetros do Sistema. Pode-se utilizar o fator de calibração enunciado para o procedimento manual, pequenos ajustes podem ser necessários.

- **Precauções e cuidados especiais**

Este reagente deve ser usado somente para diagnóstico "in vitro".

Pipetar com a boca, soprar no reagente, usar material contaminado com saliva e conversar junto ao frasco destampado, são ações que podem contaminar o reagente com quantidade microscópicas de saliva, capazes de deteriorar irremediavelmente o reagente.

Evitar contato com a pele e roupa. No caso de contato com os olhos, lavar com grande quantidade de água e procurar auxílio médico.

O reagente contém azida sódica como conservante (0,1%). Este componente pode reagir com cobre e chumbo podendo tornar-se um metal explosivo. Ao descartá-lo, adicionar grande quantidade de água.

Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos.

Indicação de deterioração do reagente: presença de partículas, turvação, absorbância do branco superior a 0.500 quando medido a 405 nm (cuveta de 1cm).

## CÁLCULOS

$$\text{Média } \Delta \text{ Abs/min} = \frac{(A2-A1) + (A3-A2) + (A4-A3)}{3}$$

$$\text{Amilase Amostra U/L} = \text{Média } \Delta \text{ Abs/min} \times \text{Fator}$$

Fator a 37°C = 3292 (soro) e 6520 (urina)

Calculo para Urina 24 horas:

Urina: Amilase amostra (U/L) x fator de diluição x volume (L)

## RESULTADOS

- Unidade de medida = U/L
- Unidade de Conversão, : ukat/L = U/L x 16,7
- Valores de Referência

Os seguintes valores são baseados nas medições desempenhadas a 37°C.

Soro ou plasma: 22 - 80 U/L

Urina: < 321 U/L

Estes valores são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

### LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- **Linearidade / Sensibilidade**

Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 1317 U/L L no soro e 2600 U/L na urina. Amostras com valores superiores aos descritos acima devem ser diluídas com solução salina a ponto de ficarem abaixo da linearidade e os resultados devem ser multiplicados pelo fator de diluição.

Sensibilidade: 1.8 U/L

- **Interferências:**

Amostras hemolisadas não devem ser usadas uma vez que os eritrócitos contêm contaminantes e enzimas, os quais irão interferir no teste.

Bilirrubina até 20 mg/dL e Triglicérides até 10 g/L não interferem significativamente no resultado. A Hemoglobina (2,5 g/L) interfere.

Amostras com citrato, EDTA ou oxalato não devem ser usadas porque produzem resultados falsamente diminuídos.

Algumas drogas e substâncias afetam a concentração da Amilase, sugerimos consultar Young et al.

### SIGNIFICADO CLÍNICO

A alfa-amilase é derivada principalmente das glândulas salivares e do pâncreas exócrino. A enzima é uma molécula relativamente pequena que é rapidamente filtrada pelos rins e excretada na urina.

A alfa-amilase é mais freqüentemente medida no diagnóstico de pancreatite aguda quando níveis no soro podem estar grosseiramente elevados. Na pancreatite aguda a alfa-amilase começa a aumentar aproximadamente 4 horas após o início da dor, atingindo picos em 24 horas e permanecendo elevados de 3 - 7 dias.

Hiperamilasemia está também associada com outras desordens abdominais agudas, doenças do trato biliar, cetoacidose diabética, disfunção glomerular severa, desordens da glândula salivar, ruptura de gravidez ectópica e macroamilasemia.

### REFERÊNCIAS

1. Tietz, N.W., Textbook of Clinical Chemistry, 2nd Edition, Philadelphia (PA), W.B. Saunders.p.854-861 (1994)
2. Young, D.S., et al, Clin. Chem, 21:1D (1975).
3. Expert Panel of Enzymes of the Internacional Federation of Clinical Chemistry, Clin. Chem. 24:497-510 (1986)
4. Kaplan, L.A. and Pesce, J.J., Clinical Chemistry: Theory, analysis, and correlation, 3rd Edition, St. Louis (MO), Mosby, p. 567-568 (1996)
5. Miller, O., Gonçalves, R.R., Laboratório para o Clínico, 8 ed., Atheneu, (1998).
6. Arquivos da EBRAM

	Nome	Assinatura	Data
Elaborado por			
Aprovado por			
Revisado por			
Desativado por			
Razão			