

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

### USO

Reação cinética para determinação quantitativa de amilase em amostras de soro, plasma e urina humanos. 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.

$\alpha$  - amilase

CNP -- G3 -----> CNP + maltotriosa

### 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 frequentemente 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.

O diagnóstico clínico não deve ser realizado com o resultado de somente um teste, mas devem integrar-se nos dados clínicos e de laboratório.

### 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)

### REAGENTES

Reagente único, pronto para uso e sensível a luz. Conservar entre 2 - 8 °C. Contem: MES 50mmol/L, cloreto de cálcio 5mmol/L, cloreto de sódio 300mmol/L, tiocianato de sódio 450mmol/L, CNPG3 2,25mmol/L, pH 6,1.

O reagente não aberto e estável até a data de vencimento impressa no rotulo do produto, e on board (no compartimento refrigerado do analisador) possui estabilidade de aproximadamente 30 dias, durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminação de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

### PRECAUÇÕES E CUIDADOS REQUERIDOS

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

O reagente é sensível à luz, portanto deve ser armazenado em ambiente escuro.

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.

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

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

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

#### AMOSTRA

Soro ou plasma heparinizado: A amilase na amostra é estável por 7 dias em temperatura ambiente e 1 mês entre 2 – 8°C.

Urina: 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.

**Urina:** Deve-se seguir o procedimento operacional padrão do laboratório para colheita, preparação e armazenamento da amostra.

Todavia, poderá ser modificado segundo orientação médica.

#### MATERIAL NECESSÁRIO NÃO FORNECIDO

1. Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorvância de 405nm.
2. Pipetas para medição de amostras e reagente.
3. Consumíveis do analisador quando usado.
4. Soros Controle e Calibradores.
5. Medidor de tempo.

#### 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 Automatizado

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

Aplicação no sistema semiautomático: proceder como demonstrado a seguir no procedimento manual somente até o item 1 (preparação dos tubos), em seguida utilizar o equipamento para leitura, seguindo protocolo analítico específico baseado no item Parâmetros do Sistema.

Nota: Adicionar as amostras no tubo somente no momento que antecede a aspiração do equipamento.

##### • Procedimento Manual

1. Separar 3 tubos de ensaio e realizar os procedimentos conforme abaixo:

	Branco	Calibrador	Amostra/S.C.
Água destilada	20µL	-	-
Calibrador	-	20µL	-
Amostra/S. C.	-	-	20µL
Reagente	1,0mL	1,0mL	1,0mL

2. Adicionar 1,0mL do reagente em dois tubos e adicionar 20µL do calibrador e 20µL de água destilada em cada tubo, deixar em banho-maria (BM) a 37°C por 1 minutos. O nível de água no BM deve ser superior ao nível de reagentes nos tubos de ensaio.

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

3. Zerar o espectrofotômetro a 405nm com o tubo do branco.
4. Inserir no equipamento o tubo com o calibrador e registrar as absorbâncias A1, A2, A3, considerando A1 a primeira leitura (logo após o 1 minuto de incubação) e as seguintes com 1 minuto de intervalo.
5. Determinar as duas diferenças de absorbância/min ( $\Delta$  Abs/min), subtraindo cada leitura de sua anterior.
6. Determinar a média das diferenças de absorbâncias ( $\Delta$  Abs/min). Proceder em seguida do mesmo modo com os controles e todas as amostras.

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

## CÁLCULOS

(Abs. = Absorbância)

(Conc. = Concentração)

$$\Delta \text{ Abs. /min} = (A2 - A1) + (A3 - A2) / 2$$

Amilase da                     $\Delta$  Abs /min (amostra)                    Conc. Do

Amostra (U/L) = ----- x Calib (U/L)

$\Delta$  Abs /min (Calib)

Calculo para Urina 24 horas:

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

Exemplo:

Absorbância com o Calibrador

A1 = 0,078 / A2 = 0,098 / A3 = 0,118

Média  $\Delta$  Abs/min = (0,098-0,078) + (0,118-0,098)

-----

2

Média  $\Delta$  Abs/min (calib) = 0,02

Média  $\Delta$  Abs/min (amostra) = 0,024 (calc. Idem acima)

Concentração do Calibrador = 291 U/L

Volume Urinário= 0,950L

Amilase na amostra = (0,024 / 0,020) 291

Amilase na amostra= 349 U/L

Calculo para Urina 24horas

Amilase na Urina= 349 x 1 x 0,95

Amilase na Urina= 331 U/24hs

Obs:  $\mu$ kat/L = U/L x 0,01667

## VALORES ESPERADOS

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. E recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

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

### LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- Linearidade / Sensibilidade**

Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 1317 U/L. 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.

### OBSERVAÇÕES

- A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
- A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade  $\geq 1$  mega ohm ou condutividade  $\leq 1$  microsiemens e concentração de silicatos  $< 0,1$  mg/L (água tipo II). Para o enxague da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade  $\geq 0,1$  mega ohms ou condutividade  $\leq 10$  microsiemens. No enxague final utilizar água tipo II.

### REFERÊNCIAS

- Winn-Deen ES, David H, Sigler G and Chavez R. Development of a direct assay for  $\alpha$ -amylase. Clin Chem 1988; 34:2008-2008
- Gella FJ, Gubem G, Vidal R, Canalias F. Determination of total and pancreatic  $\alpha$ -amylase in human serum with 2 choro-4- nitrophenyl- $\alpha$ -D-maltotrioxide as substrate. Clin Chim Acta 1997; 259: 147-160
- Gubern G., Balsells D, Ferragut R, Galan A, Gella FJ, et al. Procedimiento recomendado para la determinacion em rutina de la concentracion catalitica de  $\alpha$ -amilasa em suero sanguineo humano. Quim Clin 1996; 15: 51-52
- 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
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratoru testes, 3th ed. AACC press, 1997.

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

VER Ago/20