



# Amylase

## Finalidade

Método cinético a 405 nm para a determinação de amilase em soro, plasma ou urina. Substrato CNPG3.

## Significado clínico

A amilase, produzida principalmente no pâncreas exócrino e nas glândulas salivares; divide as ligações  $\alpha$ -1-4 glicosídicas dos polissacarídeos (amido e glicogênio).

Encontra-se aumentada no soro de pacientes com pancreatite aguda, alcançando os valores mais elevados entre 24 e 30 horas após a crise, declinando para retornar aos níveis normais nas 24 e 48 horas seguintes.

A excreção urinária da enzima também está aumentada neste caso, persistindo a hiperamilasúria por 3 a 5 dias, tão logo a atividade sérica tenha alcançado níveis normais.

Também é possível encontrar valores aumentados em qualquer caso de "abdôme agudo" ou intervenção cirúrgica em regiões próximas ao pâncreas.

As parotidites bacterianas e caxumba também estão relacionadas com elevações nos níveis de amilase sérica.

## Fundamentos do método

A  $\alpha$ -amilase hidrolisa o substrato definido 2-cloro-p-nitrofenil- $\alpha$ -D-maltotriósido (CNP-G3) para liberar 2-cloro-p-nitrofenol (CNP), formando-se 2-cloro-nitrofenil- $\alpha$ -D-maltósido (CNP-G2), maltotriose (G3) e glicose. O CNP absorve a 405 nm e a velocidade de formação da cor é diretamente proporcional à atividade enzimática.

## Reagentes fornecidos

**A. Reagente A:** solução contendo CNP-G3 2,25 mmol/L, cloreto de cálcio 5 mmol/L, cloreto de sódio 70 mmol/L, tiocianato de potássio 900 mmol/L e tampão MES pH 6, 100 mmol/L.

## Instruções de uso

**Reagente A:** pronto para uso.

## Precauções

O Reagente A é para uso diagnóstico "in vitro".

O Reagente A é irritante. H319 Provoca irritação ocular grave. P262 Não pode entrar em contato com os olhos, a pele ou a roupa. P305 + P351 + P338 SE ENTRAR EM CONTATO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Caso use lentes de contato, retire-as, se for possível. Continuar enxaguando. P302 + P352 SE ENTRAR EM CONTATO COM A PELE: lavar com sabonete e água abundantes. P280 Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/óculos de proteção/proteção facial.

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartados conforme a regulação local vigente.

## Estabilidade e instruções de armazenamento

**Reagente Fornecido:** estável sob refrigeração (2-10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem.

## Indícios de instabilidade ou deterioração dos reagentes

O Reagente A pode desenvolver uma coloração amarelada que não afeta seu funcionamento. Quando o espectrofotômetro for zerado com água destilada, leituras de absorbância do Reagente A superiores a 0,500 D.O. (a 405 nm) são indícios de deterioração.

## Amostra

Soro, plasma heparinizado ou urina

**a) Coleta:** caso seja utilizado soro, obter da maneira usual, separando o soro do coágulo o mais rapidamente possível. Caso seja utilizado plasma, este deve ser heparinizado. Se for empregada urina, a determinação pode ser feita em amostra de urina ocasional.

**b) Aditivos:** caso seja utilizado plasma, deve-se utilizar heparina para a sua obtenção. Se for utilizada urina, ver c).

**c) Estabilidade e instruções de armazenamento:** no soro, a amilase é estável durante uma semana a temperatura ambiente ou vários meses sob refrigeração.

Na urina, se a amostra não for processada no dia, é conveniente ajustar o pH aproximadamente a 7 (com hidróxido de sódio), dado que o pH ácido inativa a enzima irreversivelmente. À pH 7, pode ser conservada sob refrigeração por pelo menos 10 dias, sem perda de atividade, se não houver contaminação bacteriana.

## Interferências

Não são observadas interferências por bilirrubina até 22 mg/dL (220 mg/L), hemoglobina até 180 g/L, triglicérides até 1400 mg/dL (14 g/L), nem heparina até 50 U/mL. No caso de urina, não deve ser adicionado ácido clorídrico como conservante.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

## Material necessário (não fornecido)

- Espectrofotômetro.
- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.
- Cubetas espectrofotométricas de faces paralelas.
- Banho-maria à temperatura de reação selecionada.
- Cronômetro.

## Condições de reação

- Comprimento de onda: 405 nm
- Temperatura de reação: 25, 30 ou 37°C
- Tempo de reação: 2 minutos

## Procedimento

### A) 25-30°C

Em uma cubeta mantida à temperatura selecionada, colocar:

Reagente A	2 mL
Pré-incubar por 3-4 minutos. Adicionar, a seguir:	
Amostra	100 uL

Misturar imediatamente e ler a absorbância nos tempos 1 e 2 minutos. Determinar a diferença entre a segunda e a primeira leitura. Utilizar este valor para os cálculos. Os volumes podem ser diminuídos proporcionalmente, utilizando 1 mL de Reagente A e 20 uL de Amostra.

### B) 37°C

Como a atividade sob esta temperatura é maior, utilizar 50 uL de Amostra. Seguir o procedimento segundo A). Os volumes podem ser diminuídos proporcionalmente, utilizando 1 mL de Reagente A e 20 uL de Amostra.

## Cálculo dos resultados

Amilase (U/l) =  $\Delta A/\text{min} \times \text{fator}^*$

Temperatura	Reagente A	Amostra	Fator
25-30°C	2 mL	100 uL	1628
	1 mL	50 uL	1628
37°C	2 mL	50 uL	3178
	1 mL	20 uL	3953

\*os fatores são calculados segundo a seguinte fórmula geral:

$$\text{Fator} = \frac{VT}{VA \times b \times \epsilon_{\text{CNP}} \times 10^{-3}}$$

onde:

VT: volume total

VA: volume da amostra

b: passo óptico

$\epsilon_{\text{CNP}}$ : coeficiente de absorvidade milimolar do CNP

$10^{-3}$ : fator de conversão (absorvidade milimolar a micromolar)

Exemplo:

(Os dados apresentados a seguir são ilustrativos)

	Amostra	Diferença	Média
Absorbância $A_1$	0,423		
Absorbância $A_2$	0,455	0,032	0,032

Utilizando Fator teórico (37°C):

Amilase (U/L) =  $0,032 \times 3953 = 126 \text{ U/L}$

Quando utilizado o Laborcal como calibrador:

Concentração de amilase no calibrador: 253 U/L (37°C)

	Calibrador	Diferença	Média
Absorbância $A_1$	0,358		
Absorbância $A_2$	0,423	0,065	0,065

Obtenção do fator de calibração:

$$\text{Fator} = \frac{[\text{Amilase}_{\text{calibrador}}]}{\Delta A/\text{min}_{\text{calibrador}}} = \frac{253 \text{ U/L}}{0,065} = 3892$$

Amilase (U/L) =  $\Delta A/\text{min}_{\text{Amostra}} \times \text{Fator} = 0,032 \times 3892 = 125 \text{ U/L}$

## Método de controle de qualidade

Se a amostra a ensaiar for soro, processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (Laborcontrol 1 e Laborcontrol 2 da Laborlab) com atividades conhecidas de amilase, com cada determinação.

## Valores de referência

Temperatura	25°C	30°C*	37°C
Soro até	84 U/L	100 U/L	125 U/L
Urina ocasional até**	455 U/L	540 U/L	680 U/L

\* Calculados

\*\* Estes valores de referência foram obtidos a partir de uma população sadia (n = 40), de ambos os sexos, com idades compreendidas entre 17 e 40 anos, com uma dieta normal, sem sintomas de doença aparente.

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

#### Conversão de unidades ao sistema SI

Amilase (U/L) x 0,017 = Amilase (ukat/L)

#### Limitações do procedimento

Vide "Interferências".

Não pipetar com a boca.

A contaminação do Reagente A com saliva, constitui uma causa de resultado errôneo, visto que a saliva contém elevada atividade amilásica. Em tal caso, deve-se descartar o Reagente. Evitar o contato com elementos de borracha (tampões, batoques), porque deterioram o Reagente A.

#### Desempenho

**a) Reprodutibilidade:** processando simultaneamente duplicatas de uma mesma amostra em um mesmo dia, obtiveram-se os seguintes valores:

Nível	D.P.	C.V.
51 U/L	± 0,978 U/L	1,9 %
467 U/L	± 2,139 U/L	0,46 %

**b) Sensibilidade:** depende do fotômetro empregado. Em espectrofotômetro a 405 nm com cubetas de faces paralelas de 1 cm de espessura, para um  $\Delta A/\text{min}$  de 0,001 a menor alteração detectável será de 4 U/L (a 37°C).

**c) Linearidade:** a reação é linear até uma atividade de amilase de 2000 U/L. Para valores superiores deve ser utilizada a amostra diluída com solução salina. Repetir a determinação e multiplicar o resultado pelo fator de diluição.

#### Parâmetros para analisadores automáticos

Para a programação, consultar o manual de uso do analisador a ser utilizado.

#### Apresentação

- 2 x 30 mL (Cód. 1770020)
- 6 x 10 mL (Cód. 1770025)

#### Referência

- Rauscher, E. et al - Clin. Chem. 31/1:14 (1985).
- Tietz, N. - Fundamentals of Clinical Chemistry - W.B. Saunders Co. (1970).
- Lorenzo, L.; Demaría, I.; Setta, F.; Taborda, M. - 44th National Meeting, AACC, 19-23 julho, 1992, Chicago, Illinois. - Clin. Chem. 38/6:935, Abs.3, 1992.
- Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular - Química Clínica 15/1:51, 1996.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4<sup>th</sup> ed., 2001.

#### Termo de garantia

Este kit como um todo tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Departamento Técnico da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda. que não houve falhas técnicas na execução e manuseio deste kit, assim como em sua conservação.

## SÍMBOLOS



Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"

Representante autorizado na Comunidade Europeia

Uso médico-diagnóstico "in vitro"

Conteúdo suficiente para <n> testes

Data de validade

Limite de temperatura (conservar a)

Não congelar

Risco biológico

Volume após da reconstituição

Conteúdo

Número de lote

Elaborado por:

Nocivo

Corrosivo / Caústico

Irritante

Consultar as instruções de uso

Calibrador

Controle

Controle Positivo

Controle Negativo

Número de catálogo



Produtos para Laboratórios Ltda.  
Estrada do Capão Bonito, 489  
Guarulhos - SP - Brasil - CEP: 07263-010  
CNPJ: 72.807.043/0001-94  
Atendimento ao cliente:  
+55 (11) 2480 0529/+55 (11) 2499 1277  
sac@laborlab.com.br  
www.laborlab.com.br