AMILASE

MÉTODO:
Cinético CNPG / Cinético IFCC.

FINALIDADE:
Reagente diagnóstico para a determinação quantitativa da amilase no soro, plasma heparinizado ou urina em sistemas fotométricos.
Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

SIGNIFICADO CLÍNICO:
A α-amilase ou 1,4-α-D-glucan-glucanoidrolase (EC 3.2.1.1) catalisa a degradação hidrolítica das ligações glicosídicas α-D-1,4 de carboidratos poliméricos tais como a amilose, a amilopectina e o glicogênio. Há dois tipos distintos de amilases: a pancreática (tipo-P) e a salivar (tipo-S ou ptialina). A ptialina pode ser encontrada em outros tecidos além das glândulas salivares, como glândulas sudoríparas, lacrimais, mamárias, no líquido amniótico e pulmões. A dosagem da α-amilase pancreática é importante no diagnóstico de doenças do pâncreas, como pancreatite aguda. No entanto, a hiperamilasemia ocorre também em falência renal, tumores pulmonares e ovarianos, inflamação pulmonar, cetoacidose diabética e doenças das glândulas salivares.

FUNDAMENTO:
A atividade da α-amilase é medida pela catálise direta do substrato 2-cloro-4-nitrofenil-α-D-maltotriose (CNP-G3), resultando na formação de cloronitrofenol (CNP). A absorbância de CNP é diretamente proporcional à concentração de α-amilase presente na amostra.

$$CNP\text{-}G3 \xrightarrow{\alpha\text{-}amilase} CNP + Maltotriose$$

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:
Conservar entre 2 e 8 °C.

COMPOSIÇÃO:

Tampão MES, pH 6,4	≥100	mmol/L
Cloreto de sódio	≥350	mmol/L
Acetato de cálcio	≥6,0	mmol/L
Tiocianato de potássio	≥900	mmol/L
CNP-G3	≥2,2	mmol/L
Surfactantes e conservantes	>1,0	g/L

MODO DE USO:
O reagente está pronto para o uso e não depende de preparo.

ESTABILIDADE:
O reagente armazenado entre 2 e 8 °C é estável até a data de validade impressa no rótulo.
Não congelar!

Estabilidade *on board*
Após a abertura e instalação no analisador, os reagentes permanecem estáveis **por até 49 dias**, desde que mantidos no compartimento refrigerado dos analisadores Vyttra – BM SERIES.

Deve-se substituir o reagente imediatamente ao identificar sinais de instabilidade ou deterioração, tais como:
- Degradação Física: Presença de turbidez, precipitação ou alteração na coloração original da solução e sinais visíveis de vazamento.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos limites de tolerância, critérios de aceitação estabelecidos, ou falhas consecutivas no processo de calibração do sistema analítico.

Frequência de Calibração
A calibração desse ensaio deve ser realizada quando inserido no sistema. Uma nova calibração deverá ser executada quando houver:
- Troca de Lote: Instalação de um novo lote de reagentes
- Intervenção Técnica: Após manutenções preventivas ou corretivas.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos critérios de aceitação estabelecidos.

A calibração do ensaio é válida **por até 20 dias**, podendo ser antecipada caso um dos cenários acima ocorra.

Nota: A periodicidade da calibração pode ser redefinida pelo laboratório, desde que fundamentada em evidências documentadas que comprovem a manutenção do desempenho analítico dentro dos limites especificados.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:
O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES:
- A manutenção das características de desempenho e da segurança do produto é também de responsabilidade do laboratório usuário, que deve assegurar o cumprimento das Boas Práticas de Laboratório, a utilização conforme esta Instrução de Uso, o armazenamento, transporte e manuseio adequados, a calibração, verificação e manutenção dos equipamentos, a capacitação dos profissionais envolvidos, bem como a utilização de níveis de controle de qualidade apropriados ao ensaio, conforme os requisitos aplicáveis.
- Os reagentes não necessitam ser tratados como amostras contaminantes.
- Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente.
- Não há como assegurar que amostras biológicas e soros controles estão totalmente isentos de agentes infecciosos, portanto, é recomendado manuseá-los de acordo com as instruções de biossegurança. Para as informações de segurança do produto, consultar a Ficha de Produtos (FDS).
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.
- Não pipetar com a boca, pois a saliva contém ptialina que interfere nos resultados.

AMOSTRA BIOLÓGICA:
Soro ou plasma (heparina) livres de hemólise e urina.

ESTABILIDADE DAS AMOSTRAS:
A estabilidade da α-amilase em soro ou plasma (heparina) é de 28 dias entre 2 e 8 °C e 7 dias entre 20 e 25 °C. Na urina é estável por 10 dias entre 2 e 8 °C e 2 dias entre 20 e 25 °C.
A α-amilase é instável em urina ácida. Portanto, o pH da amostra de urina deve ser ajustado para aproximadamente 7,0 antes do armazenamento.
Descongelar as amostras apenas uma vez e descartar amostras contaminadas!

INTERFERENTES:
Nenhuma das substâncias abaixo apresentou interferência até as seguintes concentrações:

Ácido ascórbico	20 mg/dL
Bilirrubina	15 mg/dL
Hemoglobina	200 mg/dL
Triglicérides	1500 mg/dL

Substâncias/medicamentos, como agentes colinérgicos e opiáceos (ex.: morfina), podem estar associados a elevação de amilase sérica; o efeito pode variar conforme o contexto clínico e o método. A presença de macroamilase na amostra de soro pode produzir resultados falsamente elevados na ausência de pancreatite.[10]

Além das limitações gerais do método, a fase pré-analítica em urina (tempo/temperatura de armazenamento, contaminação microbiana e pH) pode impactar o resultado.[11]

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:
- Fotômetro UV/VIS
- Pipetas
- Cronômetro
- Tubos de ensaio
- Solução NaCl 9,0 g/L
- Banho-maria a 37 °C
- Controles e calibrador

MÉTODO DE ANÁLISE:
A-Preparo:
Termostatizar o reagente de uso na temperatura desejada. A temperatura deve permanecer constante (±0,5 °C) durante a execução do teste.

Preparo da amostra de urina:
Medir e anotar o volume urinário em mL e o tempo de coleta da amostra.

B-Leitura em espectrofotômetro:
Comprimento de onda (λ): 405 nm (400 a 420 nm)
Temperatura: 37 ±0,5 °C
Tipo de reação: Cinética crescente
Calibração: Linear de 2 pontos, contra reagente branco

C-Esquema de pipetagem:
1- Em três tubos ou cubetas marcados como Branco, Padrão e Amostra, proceder conforme o protocolo a seguir:

Pipetar	Tubos ou cubetas		
	Branco	**Padrão**	**Amostra**
Água	20 µL	---	---
Calibrador/Padrão	---	20 µL	---
Amostra	---	---	20 µL
Reagente	1000 µL	1000 µL	1000 µL

2- Homogeneizar bem, incubar por 1 minuto a 37 °C
3- Ler absorbância inicial a 405nm (400 a 420 nm) acionando o cronômetro simultaneamente
4- Ler novamente a absorbância após 1, 2 e 3 minutos respeitando o mesmo comprimento de onda utilizado na absorbância inicial

D-Cálculo com padrão:
Para avaliar a linearidade da reação, observar se as diferenças de absorbância a cada minuto são equivalentes. Calcular a média das diferenças das absorbâncias por minuto (ΔAbs/min):

$$\Delta Abs/min = \frac{(Abs1 - Abs0) + (Abs2 - Abs1) + (Abs3 - Abs2)}{3}$$

$$\text{Atividade da Amilase (U/L)} = \frac{\Delta Abs/min_{Amostra}}{\Delta Abs/min_{Padrão}} \times \text{Concentração do Calibrador/Padrão}$$

Exemplo:

Padrão:	Amostra:
A0 = 1,156	A0 = 1,008
A1 = 1,193	A1 = 1,041
A2 = 1,231	A2 = 1,075
A3 = 1,270	A3 = 1,110

$$\Delta Abs/min_{Padrão} = \frac{(1,193 - 1,156) + (1,231 - 1,193) + (1,270 - 1,231)}{3} = 0,038$$

$$\Delta Abs/min_{Amostra} = \frac{(1,041 - 1,008) + (1,075 - 1,041) + (1,110 - 1,075)}{3} = 0,034$$

Padrão = 100 U/L

AMILASE

Atividade da Amilase (U/L) = $\frac{0,034}{0,038} \times 100 =$ **89 U/L**

E-Cálculo com fator:
Para calcular a atividade da amilase (U/L), basta multiplicar:

	Soro/plasma	Urina
α-Amilase, 37 °C	10256 × ΔAbs/min	20118 × ΔAbs/min

F-Cálculo para urina:

Atividade da amilase urinária/h (U/h) = $\frac{\text{Amilase (U/L) x Volume urinário (mL)}}{\text{1000 x Tempo de coleta (h)}}$

G-Cálculo para relação Amilase/Creatinina:

Relação Amilase/Creatinina (U/g) = $\frac{\text{Amilase (U/L) x 100}}{\text{Creatinina (mg/dL)}}$

A relação Amilase/Creatinina deve ser feita com valores obtidos na determinação da atividade da amilase e da concentração da creatinina a partir da mesma amostra.

H-Cálculo para relação de depuração da Amilase/depuração da Creatinina:

Relação da depuração da Amilase/ depuração da Creatinina (%) = $\frac{\text{Amilase na urina (U/L) x Creatinina no soro (mg/dL)}}{\text{Amilase no soro (U/L) x Creatinina na urina (mg/dL)}} \text{X } 100$

A relação de depuração da Amilase/depuração da Creatinina deve ser feita com valores obtidos da determinação da atividade da amilase e da concentração da creatinina a partir de uma amostra de soro e outra de urina.

VALORES DE REFERÊNCIA:

Soro/plasma	25 – 125 U/L	(0,42 – 2,09 µkat/L)
Urina	≤30 U/h	(≤0,50 µkat/h)
Relação amilase/creatinina	≤400 U/g	(≤6,68 µkat/g)
Depuração amilase/depuração creatinina	1,0 – 4,0 %	-

Esses valores são fornecidos somente como orientação, cada laboratório deve estabelecer sua faixa de referência.
Conversão unitária: 1 U/L × 0,0167 = µkat/L

AUTOMAÇÃO:
Adaptação especial para analisadores está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada.

LINEARIDADE:
Para amostras de soro/plasma: A reação é linear até a concentração de 1600 U/L (27 µkat/L). Se os valores excederem esse intervalo, as amostras devem ser diluídas com solução NaCl 9,0 g/L e multiplicadas pelo fator de diluição aplicado.

Para amostras de urina: A reação é linear até a concentração de 500 U/L (8,3 µkat/L). Se os valores excederem esse intervalo, as amostras devem ser diluídas com água qualidade reagente e multiplicadas pelo fator de diluição aplicado.

SENSIBILIDADE:
Para amostras de soro/plasma: O limite inferior de detecção é 4,0 U/L (0,07 µkat/L).

Para amostras de urina: O limite inferior de detecção é 6,0 U/L (0,1 µkat/L).

PRECISÃO:
Repetibilidade:
A repetibilidade foi calculada a partir de 25 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTRAENSAIO *n = 25* **Amostras de soro/plasma**	**Média (U/L)**	**Desvio padrão (U/L)**	**CV%**
Amostra 1	50,1	0,545	1,09
Amostra 2	119,7	1,113	0,93
Amostra 3	200,0	1,616	0,81

INTRAENSAIO *n = 25* **Amostras de Urina**	**Média (U/L)**	**Desvio padrão (U/L)**	**CV%**
Amostra 1	35,24	0,86	2,45
Amostra 2	249,08	6,72	2,70
Amostra 3	409,64	7,12	1,74

Reprodutibilidade:
A reprodutibilidade foi calculada a partir de 25 determinações sucessivas durante 5 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTERENSAIO *n = 25* **Amostras de soro/plasma**	**Média (U/L)**	**Desvio padrão (U/L)**	**CV%**
Amostra 1	50,2	0,874	1,74
Amostra 2	121,3	1,578	1,30
Amostra 3	200,5	2,235	1,11

INTRAENSAIO *n = 25* **Amostras de Urina**	**Média (U/L)**	**Desvio padrão (U/L)**	**CV%**
Amostra 1	36	0,49	1,35
Amostra 2	255,11	4,98	1,95
Amostra 3	416,06	9,66	2,32

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:
Para amostras de soro/plasma: Foram realizados testes com 58 amostras comparando-se o reagente AMILASE (y) a um teste comercialmente disponível (x). A análise de regressão linear de Passing-Bablok resultou em:
$y = 1,003x + 0,5119$ coeficiente de correlação (r-Pearson) = 0,9951

Para amostras de urina: Foram realizados testes com 70 amostras comparando-se o reagente AMILASE (y) a um teste comercialmente disponível (x). A análise de regressão linear de Passing-Bablok resultou em:
y = y = 0,9713x + 6,3629 e coeficiente de correlação (r-Pearson) = 0,994

CALIBRAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE:
Para Calibração e Controle Interno de Qualidade Laboratorial recomenda-se o uso do calibrador e controles abaixo:
VYTCAL Multicalibrador Universal Bioquímica Clínica
VYTCON BQ I
VYTCON BQ II

APRESENTAÇÕES:

	REFERÊNCIA	VOLUME	CONTEÚDO
AMILASE (Universal)	VYT010307176EN	60 mL	2 x 30 mL
AMILASE (BM SERIES I)	VYT010307365EN	80 mL	4 x 20 mL
	VYT010307550EN	80 ML	2 X 40 mL
AMILASE (BM SERIES III)	VYT010307427EN	120 mL	6 x 20 mL

ANVISA: 81692610164

BIBLIOGRAFIA:

1. Guder WG et al. List of Analytes Preanalytical Variables. In: Samples: From the Patient to the Laboratory, 2nd Ed. 2003.
2. Ricos C et al. Scand J Clin Lab Invest. 59:491-500, 1999.
3. Statland B.E. Clinical Decision Levels for Laboratory Tests, Second Edition [Oradell NJ;Medical Economics Books, 1987.
4. Frase, CG. Biological Variation: from principles to pratice; AACC Press, 2001.
5. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Clin Chem. 24:863-8690, 1986.
6. Young DS. Ann Clin Biochem. 34(6):579-581, 1997
7. Lorentz K. Clin Chem Lab Med. 38:195-203, 1998.
8. Clancy D et al. AAPS PharmSciTech. 18, 1158–1176, 2017.
9. Wu AHB. Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests., 4th Ed. Missouri: Elsevier (Saunders), 2006.
10. University of California San Francisco Health. *Amylase – blood.* UCSF Health, 28 fev. 2023. Disponível em: https://www.ucsfhealth.org/medical-tests/amylase---blood
11. ARUP Laboratories. *Urine Preservative and Transport List.* Salt Lake City, UT: ARUP Laboratories, Rev. 0, Jan. 2026. Disponível em: https://www.aruplab.com/files/resources/testing/urinepreservativechart.pdf

SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE – SAC:
Dúvidas técnicas no procedimento ou manuseio deste kit, entrar em contato com:

ASSESSORIA CIENTÍFICA – VYTTRA DIAGNÓSTICOS
Tel. 0800 703 4043

FABRICANTE:

Vyttra Diagnósticos S.A.
Avenida Radamés Lo Sardo, 222 - Bairro Uberaba - Bragança Paulista - São Paulo
CEP: 12908-829 CNPJ: 00.904.728/0012-09
Responsável Técnica: Patrícia Yamaguti - CRF/SP: 32622

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO:

	Data de Fabricação
	Data de Validade
	Limite de Temperatura
REF	Código do Produto
	Consultar Instruções de Uso
LOT	Número do Lote
IVD	Produto para Diagnóstico In Vitro