

AMYLASE MR 

<p style="text-align: center;">REF 1107005 5 x 20 mL</p> <p style="text-align: center;">CONTENIDO R1. Monoreactivo 5 x 20 mL</p> <hr/> <p style="text-align: center;">Sólo para uso diagnóstico <i>in vitro</i></p>	<p style="font-size: 1.2em;">α-AMILASA MR</p> <p><i>Método enzimático colorimétrico</i> CINETICO</p>
---	---

FUNDAMENTO

En este ensayo directo^{1,2} la α-amilasa cataliza la hidrólisis del sustrato 2-cloro-p-nitrofenil-α-D-maltotriósido (CNP-G3) a pH 6,0 en 2-cloro-p-nitrofenol (CNP) y glucósidos libres. La reacción se controla cinéticamente a 405 nm a partir de la velocidad de formación de color del CNP producido, proporcional a la actividad α-amilásica en la muestra.



Este test ha sido formulado de acuerdo a los métodos estandarizados descritos por la IFCC. Clin Chem Lab Med 2006; 44(9) : 1146-1155.

COMPOSICION DE LOS REACTIVOS

R1 **Monoreactivo.** Tampón MES 50 mmol/L pH 6,0, acetato de calcio 5 mmol/L, cloruro sódico 300 mmol/L, tiocianato sódico 450 mmol/L, CNP-G3 2,25 mmol/L.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

 Conservar a 2-8°C.
 Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Mantener los frascos cerrados, protegidos de la luz y evitar la contaminación tapando de inmediato los viales tras su uso (ver Notas).
Descartar si se observan signos de deterioro:
 - Presencia de partículas y turbidez.
 - Absorbancia del Blanco (A) a 405 nm > 0,250 en cubeta de 1 cm.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

El Monoreactivo está listo para su uso.

MUESTRAS

Suero, plasma heparinizado y orina.
 La α-amilasa sérica y plasmática es estable 30 días a 2-8°C.
 Las muestras aleatorias de orina deben ser claras y libres de precipitados para el ensayo. Comprobar el pH. Orinas con pH < 5 pueden reducir la estabilidad del enzima. Estable 10 días a 2-8°C.

INTERFERENCIAS

- Lipemia (intralipid 20 g/L) no interfiere.
- Bilirrubina (40 mg/dL) no interfiere.
- Hemoglobina (16 g/L) no interfiere.
- Otros medicamentos y sustancias pueden interferir^{3,5}.

EQUIPO ADICIONAL

- Fotómetro o espectrofotómetro con compartimiento de medición termostatado a 37°C, para leer a 405 nm.
- Cronómetro, registrador gráfico o impresora.
- Cubetas de 1-cm de paso de luz.
- Pipetas de volumen variable para reactivos y muestras.

TECNICA

1. Preincubar el reactivo de trabajo, muestras y controles a la temperatura de reacción.
2. Ajustar a 0 el fotómetro con agua destilada.
3. Pipetear en una cubeta:

Temperatura de reacción	37°C	
R1. Monoreactivo	1,0 mL	1,0 mL
Suero/plasma	20 µL	-
Orina	-	10 µL

4. Mezclar suavemente por inversión. Insertar la cubeta en el compartimiento termostatado del instrumento y poner el cronómetro en marcha.
5. Incubar durante 1 minuto, y anotar la absorbancia inicial.
6. Repetir las lecturas exactamente a los 1,2 y 3 minutos.
7. Calcular la diferencia entre absorbancias.
8. Calcular el promedio de los resultados para obtener el cambio promedio en absorbancia por minuto (ΔA/min).

CALCULOS

Suero, plasma

$$U/L = \Delta A/\text{min} \times 3591$$

Orina

$$U/L = \Delta A/\text{min} \times 7113$$

$$\epsilon_{405}^{\text{CNP}} = 14,2 \text{ (Toyobo Biochemicals)}$$

Muestras con ΔA/min superiores a 0,500 a 405 nm deben diluirse 1:10 con solución salina y repetir el ensayo. Multiplicar los resultados por 10.

Para expresar los resultados en unidades SI aplicar:
 U/L x 0,01667 = µkat/L



VALORES DE REFERENCIA⁴

Suero, plasma

< 86 U/L (1,43 μ kat/L)

Orina

< 470 U/L (7,83 μ kat/L)

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de referencia.

CONTROL DE CALIDAD

Para un control de calidad adecuado se incluirán en cada serie controles valorados (normales y elevados) que se tratarán como muestras problema.

REF 1980005 HUMAN MULTISERA NORMAL
Valorado. Nivel normal de α -amilasa.

REF 1985005 HUMAN MULTISERA ABNORMAL
Valorado. Nivel elevado de α -amilasa.

Si los resultados obtenidos se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y la técnica usada. Cada laboratorio debe establecer su propio Control de Calidad y sus medidas correctoras cuando los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

SIGNIFICADO CLINICO

Las pruebas de la actividad amilásica en suero y orina se emplean mayoritariamente en el diagnóstico de enfermedades del páncreas y en la investigación de la función pancreática.

La amilasa se halla sobre todo en la saliva y en el tejido pancreático. Normalmente, pequeñas cantidades de amilasa se hallan presentes en la sangre, pero en varias formas de trastornos pancreáticos secretan grandes cantidades de amilasa en la sangre por el páncreas.

La actividad de la amilasa en el suero puede fluctuar rápidamente, elevándose agudamente durante un ataque y recuperando la normalidad poco después.

Se hallan niveles *aumentados* asociados a la pancreatitis aguda, obstrucción del conducto biliar, enfermedades intraabdominales, papeas y parotiditis bacteriana.

Una cantidad significativa de amilasa sérica es excretada en la orina y como resultado la elevación de la actividad sérica se ve reflejada en el aumento de la actividad amilásica urinaria. Esta se muestra elevada con más frecuencia, alcanza niveles más altos y persiste durante períodos más largos de tiempo.⁴

CARACTERISTICAS ANALITICAS

- **Límite detección:** 1,39 U/L

- **Linealidad:** Hasta 1600 U/L

- **Precisión**

U/L	Intraserial		Interserial	
	Media	DE	Media	DE
Media	85,3	326,4	85,3	326,4
DE	0,73	2,88	1,01	4,17
CV%	0,86	0,88	1,18	1,28
N	10	10	10	10

- **Sensibilidad:** 0,300 A / min / U/L amilasa.

- **Correlación:** Este ensayo (y) fue comparado con un método comercial similar (x). Los resultados fueron los siguientes:

$$N = 52 \quad r = 0,99 \quad y = 1,006x + 4,370$$

Las características analíticas han sido generadas usando un instrumento automático. Los resultados pueden variar según el instrumento utilizado.

NOTAS

- No pipetear con la boca, usar guantes y evitar el contacto con la piel. Ambas contienen amilasa.
- Este ensayo permite ser adaptado a distintos instrumentos automáticos. Cualquier adaptación a un instrumento deberá ser validada con el fin de demostrar que se cumplen las características analíticas del método. Se recomienda validar periódicamente el instrumento. Consultar con su distribuidor para cualquier dificultad en la adaptación del método.
- El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

REFERENCIAS

1. Winn-Deen, E.S., David, H., Sigler, G, y Chavez, R. Clin. Chem. 34 : 2005.
2. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC). Clin. Chem. Lab. Med. 36 : 185.
3. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.
4. Tietz. Textbook of Clinical Chemistr, 2nd Edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994.
5. Friedman y Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press 2001.

