

α -Amilasa CC* FS**

Reactivo de diagnóstico para la determinación cuantitativa *In Vitro* de α -amilasa en suero, plasma u orina en equipos fotométricos.

Información de Pedido

Nº de pedido	Tamaño del envase				
1 0501 99 10 021	R1 5 x 20 mL + R2 1 x 25 mL				
1 0501 99 10 026	R1 5 x 80 mL + R2 1 x 100 mL				
1 0501 99 10 023	R1 1 x 800 mL + R2 1 x 200 mL				
1 0501 99 10 704	R1 8 x 50 mL + R2 8 x 12,5 mL				
1 0501 99 10 930	R1 4 x 20 mL + R2 2 x 10 mL				
1 0501 99 10 921	4 x 120 test				

Resumen [1,2]

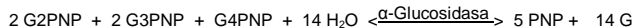
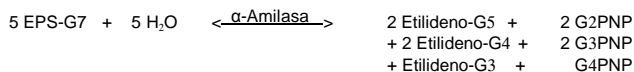
Las α -amilasas son enzimas hidrolíticas que transforman el almidón en maltosa. En el cuerpo humano las α -amilasas se originan en diferentes órganos: la amilasa pancreática es producida por el páncreas y liberada en el tracto intestinal, la amilasa salival se sintetiza en las glándulas salivales y secretadas en la saliva. La amilasa presente en la sangre se elimina a través del riñón y es excretada en la orina. Por consiguiente, la elevación en la actividad sérica está reflejada en un incremento de la actividad de la amilasa urinaria.

La medición de la α -Amilasa en suero y orina es utilizada principalmente para el diagnóstico de desórdenes pancreáticos así como también para detectar el desarrollo de complicaciones. En la pancreatitis aguda la actividad de amilasa pancreática sanguínea se incrementa a las pocas horas después del ataque de dolor abdominal, alcanza el máximo aprox. después de 12 horas y regresa a valores dentro del rango de referencia a más tardar después de 5 días. La especificidad de α -amilasa para los desórdenes pancreáticos no es muy alta debido a que niveles elevados también son medidos en varias enfermedades no-pancreáticas, por ejemplo, parotiditis e insuficiencia renal. Por consiguiente, para la confirmación de una pancreatitis aguda debe realizarse adicionalmente la medición de la lipasa.

Método

Los tests enzimáticos fotométricos utilizan el sustrato 4,6-Etilideno-(G7)-p-nitrofenil-(G1)- α -D-maltoheptaosido (EPS-G7) el que es dividido por la α -amilasa en varios fragmentos. Estos, posteriormente, son hidrolizados en un segundo paso por la α -glucosidasa produciendo glucosa y p-nitrofenol. El incremento en la absorbancia representa el total (pancreática y salival) de la actividad de la amilasa en la muestra [3,4].

Principio



(PNP = p-Nitrofenol, G = Glucosa)

Reactivos

Componentes y Concentraciones

R1:	Solución amortiguadora	pH 7,15	0,1 mol/L
	NaCl		62,5 mmol/L
	MgCl ₂		12,5 mmol/L
	α -Glucosidasa		≥ 2 kU/L
R2:	Solución amortiguadora	pH 7,15	0,1 mol/L
	EPS-G7		8,5 mmol/L

Instrucciones de Almacenamiento y Estabilidad del Reactivo

Los reactivos son estables hasta el final del mes indicado como fecha de expiración, si es almacenado entre 2 – 8 °C, protegido de la luz y si se evita la contaminación. ¡No congelar los reactivos!

Advertencias y Precauciones

- La saliva y la piel contienen α -amilasa, por consiguiente nunca pipetear los reactivos con la boca y evite el contacto de la piel con los reactivos.
- Los reactivos contienen azida de sodio (0.95 g/L) como conservante. ¡No ingerir! Evitar el contacto con la piel y las membranas mucosas.
- El reactivo 1 contiene material biológico. Tratar el producto como potencialmente infeccioso según las precauciones universales y la buena práctica de laboratorio.
- Excepcionalmente pueden obtenerse valores erróneos en muestras de pacientes con gammopatías [8].
- Consultar las fichas de seguridad de los reactivos y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación de reactivos de laboratorio. Para un correcto diagnóstico, se recomienda evaluar los resultados según la historia médica del paciente, los exámenes clínicos así como los resultados obtenidos con otros parámetros.
- ¡Únicamente para el empleo profesional!

Manipulación de Desechos

Por favor remítase a los requerimientos legales locales.

Preparación del Reactivo

Inicio con Sustrato

Los reactivos son listos para usar.

Inicio con muestra

Mezclar 4 partes de R1 + 1 parte de R2

(p. ej. 20 mL R1 + 5 mL R2) = mono reactivo

Estabilidad: 6 meses de 2 a 8 °C

4 semanas de 15 a 25 °C

¡El mono reactivo debe ser protegido de la luz!

Materiales requeridos pero no suministrados

Solución de NaCl 9 g/L

Equipo general de laboratorio

Tipo de muestra

Suero, plasma heparinizado o con EDTA, orina

Estabilidad en suero o plasma [5]:

7 días de 20 a 25 °C

7 días de 4 a 8 °C

1 año a -20 °C

Estabilidad en orina [5]:

2 días de 20 a 25 °C

10 días de 4 a 8 °C

3 semanas a -20 °C

¡Congelar sólo una vez!

¡Desechar las muestras contaminadas!

Procedimiento del Ensayo

Hay disponibles a petición aplicaciones para sistemas automáticos.

Longitud de onda Hg 405 nm

Paso óptico 1 cm

Temperatura 37 °C

Medición Contra blanco de reactivo

Inicio con sustrato

	Suero/Plasma		Orina	
	Blanco	Muestra	Blanco	Muestra
Muestra/Calibrador	-	20 μ L	-	10 μ L
Aqua destilada	20 μ L	-	10 μ L	-
Reactivo 1	1000 μ L	1000 μ L	1000 μ L	1000 μ L
Mezclar, incubar durante aprox. 1 min., luego añadir:				
Reactivo 2	250 μ L	250 μ L	250 μ L	250 μ L
Mezclar, leer la absorbancia después de 2 min. (37 °C) y empezar a cronometrar. Leer nuevamente la absorbancia después de 1, 2, y 3 min.				

Inicio con muestra

	Suero/Plasma		Orina	
	Blanco	Muestra	Blanco	Muestra
Muestra/Calibrador	-	20 μ L	-	10 μ L
Aqua destilada	20 μ L	-	10 μ L	-
Monoreactivo	1000 μ L	1000 μ L	1000 μ L	1000 μ L
Mezclar, leer la absorbancia después de 2 min. (37 °C) y empezar a cronometrar. Leer nuevamente la absorbancia después de 1, 2, y 3 min.				

Cálculo

Con factor

De las lecturas de absorbancia calcular $\Delta A/\text{min.}$ y multiplicar por el correspondiente factor de la tabla de más abajo:

$$\Delta A/\text{min.} \times \text{factor} = \text{Actividad de la Amilasa [U/L]}$$

	Inicio con sustrato	Inicio con muestra
Suero/Plasma	5670	4554
Orina	11250	9018

Con calibrador

$$\alpha - \text{Amylase [U/L]} = \frac{\Delta A / \text{min Muestra}}{\Delta A / \text{min Calibrador}} \times \text{C onc. Calibrador [U/L]}$$

Factor de conversión

α -Amilasa [U/L] x 0,0167 = α -Amilasa [μ kat/L]

Calibradores y Controles

Para la calibración de sistemas fotométricos automatizados se recomienda utilizar el calibrador DiaSys TruCal U. Este método ha sido estandarizado frente a la fórmula original de la IFCC [International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine] de 1998. Para el control interno de calidad deben utilizarse los controles DiaSys TruLab N y P como TruLab Orina. Cada laboratorio debería establecer medidas correctoras en caso de obtener valores fuera del intervalo preestablecido.

	Nº de pedido	Presentación
TruCal U	5 9100 99 10 063	20 x 3 mL
	5 9100 99 10 064	6 x 3 mL
TruLab N	5 9000 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9000 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9050 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab Orina Nivel 1	5 9170 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9170 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab Orina Nivel 2	5 9180 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9180 99 10 061	6 x 5 mL

Características**Rango de medida**

En equipos automatizados, el test sirve para determinar actividades de α -Amilasa hasta 2000 U/L.

En caso de un procedimiento manual, el test es apropiado para medir actividades de α -Amilasa que correspondan a un máximo de $\Delta A/\text{min}$ de 0,35. Si tal valor es excedido la muestra debería ser diluida 1 + 9 con solución de NaCl (9 μ g/L) y los resultados multiplicados por 10.

Especificidad/Interferencias

No aparece interferencia con el ácido ascórbico hasta 30 mg/dL, bilirrubina hasta 40 mg/dL, hemoglobina hasta 550 mg/dL y con lipemia hasta 1000 mg/dL de triglicéridos. Para más información sobre interferencias, véase Young DS [7].

Sensibilidad del test/Límite de Prueba

El límite más bajo de detección es 3 U/L.

Precisión

en la serie n = 20	valor medio [U/L]	DE [U/L]	CV [%]
Muestra 1	184	2,00	1,08
Muestra 2	398	2,67	0,67
Muestra 3	841	4,96	0,59

de un día a otro n = 20	valor medio [U/L]	DE [U/L]	CV [%]
Muestra 1	180	1,82	1,01
Muestra 2	383	3,74	0,97
Muestra 3	817	7,48	0,92

Comparación de métodos

Una comparación entre DiaSys α -Amilasa CC FS (y) con el método recomendado de rutina (x) utilizando 51 muestras dio los siguientes resultados:

$$y = 0,964 x - 2,455 \text{ U/L}; r = 0,998$$

Una comparación entre DiaSys α -Amilasa CC FS (y) y un test comercialmente disponible (x) utilizando 51 muestras dio los siguientes resultados:

$$y = 1,031 x - 3,613 \text{ U/L}; r = 0,994$$

Valores de referencia [6]

	Mujeres	Hombres
Suero/Plasma	< 100 U/L (< 1,67 μ kat/L)	< 100 U/L (< 1,67 μ kat/L)
Orina	< 447 U/L (< 7,45 μ kat/L)	< 491 U/L (< 8,18 μ kat/L)

Cada laboratorio debe comprobar si los valores de referencia indicados son adecuados para sus pacientes y si es necesario, determinar sus propios valores de referencia.

Bibliografía

- Lorentz K. α -Amylase. In: Thomas L, editor. Clinical laboratory diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 46-51.
- Moss DW, Henderson AR. Digestive enzymes of pancreatic origin. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p.689-98.
- Kruse-Jarres JD, Kaiser C, Hafkenscheid JC, Hohenwallner W, Stein W., Bohner J et al. Evaluation of a new alpha-amylase assay using 4,6-ethylidene-(G7)-1-4-nitrophenyl-(G1)-alpha-D-maltoheptaoside as substrate. J Clin Chem Biochem 1989; 27: 103-13.
- Schumann G, Aoki R, Ferrero CA et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Clin Chem Lab Med 2006; 44(9): 1146-1155.
- Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 16-7, 50-1.
- Junge W, Wortmann W, Wilke B, Waldenstroem J et al. Development and evaluation of assays for determination of total and pancreatic amylase at 37 °C according to the principle recommended by the IFCC. Clin Biochem 2001; 34: 607-15.
- Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
- Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. ClinChemLabMed 2007;45(9):1240-1243.

Fabricante

DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Alemania