

AMYLASE MR

REF 1107005

5 x 20 mL

CONTENIDO

R1. Monoreactivo 5 x 20 mL

Sólo para uso profesional de diagnóstico *in vitro*

α -AMILASA MR

Método directo

CINÉTICO

Determinación cuantitativa de la actividad de la α -amilasa**FUNDAMENTO**

En este ensayo directo¹ la α -amilasa cataliza la hidrólisis del sustrato 2-cloro-4-nitrofenil- α -D-maltotriósido (CNP-G3) a pH 6,0 en 2-cloro-4-nitrofenol (CNP) y glucósidos libres. La intensidad del color producido es proporcional a la actividad α -amilasica de la muestra. La reacción se controla cinéticamente a 405 nm.

CNP-G2 = 2-Cloro-nitrofenil- α -D-maltósido

G3 = maltotriosa

G = glucosa

COMPOSICIÓN DE LOS REACTIVOS

R1 **Reactivo.** Tampón MES 50 mmol/L pH 6,0, cloruro de calcio 5 mmol/L, cloruro sódico 300 mmol/L, tiocianato de potasio 182 mmol/L, CNP-G3 2,25 mmol/L, azida de sodio 0,95 g/L.

Advertencias y precaucionesH302 + H312 + H332 - H412
P273 - P280

Atención



Consultar las fichas de seguridad (SDS) disponibles en nuestra página web www.linear.es y observar las medidas de precaución para la manipulación de reactivos de laboratorio.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD Conservar a 2-8°C.

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. No usar una vez superada la fecha de caducidad.

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.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

El reactivo está listo para su uso.

MUESTRAS

Suero, plasma heparinizado y orina obtenido mediante procedimientos estándar.

La α -amilasa sérica y plasmática es estable hasta 7 días a temperatura ambiente y hasta 30 días a 2-8°C².

Las muestras aleatorias de orina deben ser claras y libres de precipitados para el ensayo. Comprobar el pH. Orinas con un pH < 5 pueden reducir la estabilidad del enzima. Ajustar a un pH alcalino antes de guardar la muestra. Estable 10 días a 2-8°C.

Separar la muestra del coágulo lo antes posible, no retrasar el ensayo. Desechar las muestras contaminadas. Manipular las muestras como potencialmente infecciosas conforme con las Buenas Prácticas de Laboratorio. **Transportar las muestras a 2-8°C según la normativa local.**

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 interferir³.

EQUIPO ADICIONAL

- Fotómetro o espectrofotómetro con compartimiento de medición termostaticado 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.
- Ref. 1975005 Human Multicalibrator (opcional).
- Material de uso general en laboratorio

TÉCNICA

1. Preincubar el reactivo de trabajo y las cubetas 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. Reactivo | 1,0 mL | 1,0 mL |
| Muestra / Calibrator (optional) | 16 μ L | - |
| Orina | - | 8 μ L |

4. Mezclar e insertar la cubeta en el compartimiento termostaticado del instrumento y poner el cronómetro en marcha.
5. Incubar durante 1 minuto y anotar la absorbancia inicial.
6. Efectuar nuevas lecturas cada 60 segundos durante 3 minutos.
7. Calcular la diferencia entre absorbancias.
8. Calcular el promedio de los resultados para obtener el cambio promedio en absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{min}$).

Calibración

Con Factor. Se recomienda el uso del factor teórico para el cálculo de la actividad.

Con Calibrador. Es opcional, solo es necesario si no se aplica el factor. Debe realizarse la calibración a dos puntos (M1: agua destilada y M2: Calibrador). Verificar el blanco del reactivo cada día de trabajo antes de uso.

CÁLCULOS**Con Factor.**

Suero, plasma

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

Orina

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

Con Calibrador.

$$\frac{\Delta A/\text{min Muestra}}{\Delta A/\text{min Calibrador}} \times \text{Conc. Calibrador} = U/L (\alpha\text{-amilasa})$$

Muestras con $\Delta A/\text{min}$ 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:
 $U/L \times 0,01667 = \mu\text{kat/L}$

VALORES DE REFERENCIA

Suero, plasma⁴

22 – 80 U/L (0,38 – 1,36 $\mu\text{kat/L}$)

Orina

< 470 U/L (7,83 $\mu\text{kat/L}$)

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 CLÍNICO⁴

Las pruebas de la actividad de la amilasa 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, paperas 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.

CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS

- **Límite detección:** 1,39 U/L

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

- **Precisión**

| U/L | Intraserial | | Interserial | |
|-------|-------------|-------|-------------|-------|
| 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.
- El procedimiento de ensayo debe seguirse escrupulosamente, desviaciones en el procedimiento puede conducir a resultados inexactos.
- Para preservar el buen funcionamiento del kit, no mezclar lotes ni restos de reactivos.
- Disposición: El material usado debe ser desechado de acuerdo con las normativas locales.

REFERENCIAS

- Winn-Deen, E. S., David, H., Sigier, G. & Chavez4, R. Development of a Direct Assay for α -Amylase. *Clinical chemistry* **34**, (2005).
- Wu, A. H. B. *Tietz clinical guide to laboratory tests 4th edition*. (Saunders Elsevier, 2006).
- Young, D. S. *Effects of drugs on clinical laboratory tests*. (AACC Press, 2000).
- Burtis, C. A., Ashwood, E. R. & Tietz, N. W. *Tietz textbook of clinical chemistry 3rd edition*. (W.B. Saunders, 1999).

