



COD 11534 1 x 40 mL

CONSERVAR A 2-8°C

Reactivos para medir la concentración de α -amilasa
Sólo para uso *in vitro* en el laboratorio clínico**FUNDAMENTO DEL MÉTODO**

La α -amilasa cataliza la hidrólisis del 4-nitrofenil-maltoheptaósido-etilideno a oligosacáridos, que son sustratos para la α -glucosidasa, capaz de liberar 4-nitrofenol. La concentración catalítica se determina a partir de la velocidad de formación del 4-nitrofenol, medido a 405 nm^{1,2,3}.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

- A. Reactivo. 1 x 32 mL. HEPES 50 mmol/L, cloruro de calcio 0,075 mmol/L, cloruro de sodio 90 mmol/L, cloruro de magnesio 13 mmol/L, α -glucosidasa > 4 U/mL, pH 7,1.
B. Reactivo. 1 x 8 mL. HEPES 50 mmol/L, 4-nitrofenil-maltoheptaósido-etilideno 18 mmol/L, pH 7,1.

CONSERVACIÓN

Conservar a 2-8°C.

Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, siempre que se conserven bien cerrados y se evite la contaminación durante su uso.

Indicaciones de deterioro:

- Reactivos: Presencia de partículas, turbidez, absorbancia del blanco superior a 0,300 a 405 nm (cubeta de 1 cm).

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Ejercer las precauciones habituales requeridas para manipular todos los reactivos de laboratorio. Las fichas de seguridad están disponibles para el usuario bajo petición. La eliminación de todos los residuos debe ser conforme a las normativas locales. Cualquier incidente grave que pueda ocurrir en relación al dispositivo debe ser comunicado a BioSystems S.A.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Reactivo de trabajo: Vaciar el contenido del frasco B en el frasco A. Agitar suavemente. Si se desea preparar otros volúmenes, mezclar en la proporción: 4 mL de Reactivo A + 1 mL de Reactivo B. Estable 20 días a 2-8°C.

EQUIPO ADICIONAL

- Analizador, espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatzable a 37°C para lecturas a 405 nm
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz

MUESTRAS

Suero, plasma u orina recogidos mediante procedimientos estándar.

La α -amilasa en suero o plasma es estable durante 1 mes a 2-8°C. Debe utilizarse la heparina o EDTA como anticoagulante.

La α -amilasa en orina es estable durante 1 mes a 2-8°C siempre que el pH se ajuste aproximadamente a 7 para la conservación.

PROCEDIMIENTO

- Precalentar el Reactivo de Trabajo y el instrumento a la temperatura de reacción.
- Pipetear en una cubeta (Notas 1, 2):

	Suero/Plasma 37°C	Orina 37°C
Reactivo de Trabajo	1,0 mL	1,0 mL
Muestra	30 μ L	15 μ L

- Mezclar e insertar la cubeta en el fotómetro. Poner el cronómetro en marcha.
- Al cabo de 1 minuto, anotar la absorbancia inicial y efectuar nuevas lecturas cada minuto durante 3 minutos.
- Calcular el incremento de absorbancia por minuto promedio ($\Delta A/\text{min}$).

CÁLCULOS

La concentración de α -amilasa en la muestra se calcula a partir de la siguiente fórmula general:

$$\Delta A/\text{min} \times \frac{Vt \times 10^6}{\epsilon \times l \times Vs} = U/L$$

El coeficiente de absorción molar (ϵ) del 4-nitrofenol a 405 nm es 10.600 y el paso de luz (l) es 1 cm. Para muestras de suero y plasma, el volumen total de reacción (Vt) es 1,030 a 37°C mientras que el volumen de muestra (Vs) es 0,030 a 37°C. Para muestras de orina, el volumen total de reacción (Vt) es 1,015 a 37°C y el volumen de muestra (Vs) es 0,015 a 37°C. 1 U/L equivale a 0,0166 μ kat/L. Se deducen los siguientes factores para calcular la concentración catalítica:

		37°C
$\Delta A/\text{min}$	Suero, plasma	x 3239 = U/L x 53,8 = μ kat/L
	Orina	x 6384 = U/L x 105,9 = μ kat/L

VALORES DE REFERENCIA

Temperatura reacción	Suero, plasma		Orina	
	U/L	μ kat/L	U/L	μ kat/L
37°C, hasta ⁴	28 - 100	0,47 - 1,67	16 - 491	0,26 - 8,15

Estos valores se dan únicamente a título orientativo; es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso de los Sueros Control Bioquímica nivel I (cod. 18005, cod. 18009 y cod. 18042), nivel II (cod. 18007, cod. 18010 y cod. 18043) y la Orina Control Bioquímica (cod. 18054 y cod. 18066) para verificar la funcionalidad del procedimiento de medida.

Cada laboratorio debe establecer su propio programa de Control de Calidad interno, así como procedimientos de corrección en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias aceptables.

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

Las prestaciones metrológicas que se describen a continuación, han sido obtenidas utilizando un analizador A25 y siguiendo las guías del Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI).

- Límite de detección: 2,79 U/L = 0,046 μ kat/L. Límite de cuantificación: 13,0 U/L = 0,217 μ kat/L.
- Límite de linealidad: 1300 U/L = 21,7 μ kat/L. Rango de medida: 13,0 – 1300 U/L (suero) = 28,9 – 2600 U/L (orina).
- Precisión:

Suero. Concentración media	Repetibilidad (CV)	Imprecisión total (CV)
55,0 U/L = 0,91 μ kat/L	2,4 %	3,8 %
211 U/L = 3,50 μ kat/L	1,4 %	2,1 %
1049 U/L = 17,4 μ kat/L	1,2 %	1,4 %

Orina. Concentración media	Repetibilidad (CV)	Imprecisión total (CV)
182 U/L = 3,03 μ kat/L	1,3 %	2,3 %
418 U/L = 6,94 μ kat/L	1,5 %	2,3 %
1982 U/L = 32,9 μ kat/L	1,0 %	1,7 %

- Veracidad: Los resultados obtenidos con estos reactivos no muestran diferencias sistemáticas significativas al ser comparados con reactivos de referencia. Los detalles del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Interferencias: la bilirrubina (hasta 30 mg/dL), la hemólisis (hemoglobina hasta 604 mg/dL) y lipemia (triglicéridos hasta 659 mg/dL) no interfieren. Otros medicamentos y sustancias pueden interferir⁵.

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

La α -amilasa cataliza la hidrólisis de los enlaces α -1,4 de los carbohidratos constituidos por unidades de α -D-glucosa, originando la formación de dextranos, maltosa y glucosa. La α -amilasa se produce principalmente en el páncreas exocrino (tipo-P) y en las glándulas salivales (tipo-S) aunque también se encuentra en otros tejidos.

La medición de la actividad amilasa en suero y orina tiene utilidad principalmente para el diagnóstico de enfermedades pancreáticas como la pancreatitis crónica o aguda. La hiperamilasemia también puede ser debida a insuficiencia renal, dolor abdominal agudo, tumor en pulmones y ovarios, lesiones en las glándulas salivales, macroamilasemia, cetoacidosis diabética, enfermedad del tracto biliar, trauma cerebral, alcoholismo crónico y medicamentos (opiáceos)^{6,7}.

El diagnóstico clínico no debe realizarse teniendo en cuenta el resultado de un único ensayo, sino que debe integrar los datos clínicos y de laboratorio.

NOTAS

- La saliva y la piel contienen α -amilasa. No pipetear el reactivo con la boca y evitar el contacto del reactivo con la piel.
- Este reactivo puede utilizarse en la mayoría de analizadores automáticos. Solicite información a su distribuidor.

BIBLIOGRAFÍA

- IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 8. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of α -amylase. *Clin Chem Lab Med* 2006; 44: 1146-1155.
- IFCC reference procedures for measurement of catalytic concentrations of enzymes: corrigendum, notes and useful advice. *Clin Chem Lab Med* 2010; 48: 615-621.
- Lorentz K. Routine α -amylase assay using protected 4-nitrophenyl-1,4- α -D-maltoheptaoside and a novel α -glucosidase. *Clin Chem* 2000;46:644-649.
- Junge W, Werner W, Wilke B et al. Development and evaluation of assays for the determination of total and pancreatic amylase at 37°C according to the principle recommended by the IFCC. *Clin Biochem* 2001;34:607-615.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 2005.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.

