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 10 917	R1	8 x	60 mL	+	R2	8 x	15 mL
1 0501 99 10 191	R1	4 x	36 mL	+	R2	4 x	9 mL
1 0501 99 10 940	R1	8 x	60 mL	+	R2	8 x	15 mL
1 0501 99 90 314	R1	10 x	20 mL	+	R2	2 x	30 mL

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 substrato 4,6–Etilideno–(G7)–p–nitrofenil–(G1)–α–D–maltoheptaosido (EPS–G7) el que es dividido por la α–amilasa en varios fragmentos. Éstos, 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

$$5\ \text{EPS-G7} + 5\ H_2O \xrightarrow{\alpha\text{-Amilasa}} \begin{array}{l} 2\ \text{Etilideno-G5} + 2\ \text{G2PNP} \\ +\ 2\ \text{Etilideno-G4} + 2\ \text{G3PNP} \\ +\ \text{Etilideno-G3} + \text{G4PNP} \end{array}$$

$$2\ \text{G2PNP} + 2\ \text{G3PNP} + \text{G4PNP} + 14\ H_2O \xrightarrow{\alpha\text{-Glucosidasa}} 5\ \text{PNP} + 14\ \text{G}$$

(PNP = p-Nitrofenol, G =Glucosa)

Reactivos

Componentes y Concentraciones

R1:	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:	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

1. 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.
2. Los reactivos contienen azida de sodio (0.95 g/L) como preservante. ¡No ingerir! Evitar el contacto con la piel y las membranas mucosas.
3. Tomar las precauciones necesarias para el uso de reactivos de laboratorio.

Manipulación de Desechos

Por favor remítase a los requerimientos legales locales.

Preparación del Reactivo

Inicio con Sustrato

Los reactivos están listos para usar.

Inicio con muestra

Mezclar 4 partes de R1 + 1 parte de R2
(p. ej. 20 mL R1 + 5 mL R2) = monoreactivo

Estabilidad:	6 meses	de 2 a 8 °C
	4 semanas	de 15 a 25 °C

¡El monoreactivo 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

¡Desechar las muestras contaminadas!

* Complete color = Coloración completa
** Fluid Stable = líquido estable

Procedimento 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

	Blanco	Suero/ Plasma	Orina
Muestra/Calibrador	-	20 µL	10 µL
Reactivo 1	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Mezclar, incubar durante aprox. 1 min., luego añadir:			
Reactivo 2	250 µL	250 µL	250 µL
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

	Blanco	Suero/ Plasma	Orina
Muestra/Calibrador	-	20 µL	10 µL
Monoreactivo	1000 µL	1000 µL	1000 µL
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 ΔA/min. y multiplicar por el correspondiente factor de la tabla de más abajo:

ΔA/min. x factor = Actividad de la Amilasa [U/L]

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

Con calibrador

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

Calibradores y Controles

Para la calibración de sistemas fotométricos automatizados se recomienda el uso del calibrador DiaSys TruCal U. Para el control interno de calidad los controles DiaSys TruLab N y P como TruLab Orina deberán probarse con cada lote de muestras.

	Cat. No.	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 Nível 1	5 9170 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9170 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab Orina Nível 2	5 9180 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9180 99 10 061	6 x 5 mL

Características

Rango de medida

El test ha sido desarrollado para determinar las actividades de la amilasa las cuales corresponden a un máximo ΔA/min. de 0.35.
Si tal valor es excedido la muestra debe ser diluida 1 + 10 con solución de NaCl (9 g/L) y los resultados multiplicados por 11.

Especificidad/Interferencias

No aparece interferencia con el ácido ascórbico hasta 30 mg/dL, bilirrubina hasta 40 mg/dL, lipemia hasta 1000 mg/dL de triglicéridos. La hemoglobina interfiere aún en concentraciones bajas.

Límite de Detección

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

Método de Comparación

Una comparación entre DiaSys α–Amilasa CC FS (y) con el metodo recomendado de rutina (x) utilizando 51 muestras dio los siguientes resultados:
y = 0,964 x – 2,455 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 U/L; r= 0,994.

Valores de Referencia [6]

	Mujeres	Hombres
Suero / Plasma	< 100 U/L	< 100 U/L
Orina	< 447 U/L	< 491 U/L

Cada laboratorio debería comprobar la transmisibilidad de los valores de referencia de sus propios grupos de pacientes y, dado el caso, determinar sus propios valores de referencia.

Bibliografía

1. Lorentz K. α-Amylase. In: Thomas L, editor. Clinical laboratory diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p.192-202.
2. 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.
3. 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.
4. 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
5. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 16-7, 50-1.

Fabricante

DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Alemania