

AMILASA (CNP-G3)

Reactivo líquido para la determinación fotométrica de la Amilasa en suero.

Para uso en el diagnóstico *in Vitro*. Apto para usar en autoanalizador.

SIGNIFICANCIA CLINICA

La enzima amilasa es producida por el páncreas exocrino y las glándulas salivales. Esta enzima pertenece a las del grupo denominado hidrolasas, teniendo por función la hidrólisis de algunos polisacáridos como el almidón y el glucógeno.

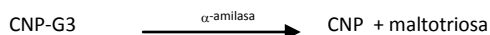
La medición de la actividad de amilasa en suero tiene utilidad principalmente para el diagnóstico de enfermedades pancreáticas como la pancreatitis crónica o aguda. La hiperamilasemia también puede ser debida a insuficiencia renal, dolor abdominal agudo, tumor en pulmones y ovario, lesiones en las glándulas salivales y otros.

FUNDAMENTOS DEL METODO

Inicialmente, la amilasa se determinaba cuantitativamente según el método iodométrico de Wohlgemuth. Posteriormente, Somogyi estandarizó las cantidades de almidón y yodo, siendo estas modificaciones las bases de los métodos amiloclásticos y iodométricos introducidos posteriormente por Caraway.

Wallenfels et al., introdujo el p-nitrofenilglicosido como sustrato para la determinación de α -amilasa, en un procedimiento que eliminaba la interferencia endógena de glucosa y piruvato.

El método utilizado por VALTEK® se basa en el uso de 2-cloro-p-nitrofenol unido con maltotriósido (CNP-G3) como sustrato. La α -amilasa cataliza la hidrólisis del 2-cloro-p-nitrofenil-maltotriósido a 2-cloro-4-nitrofenol. La concentración catalítica se determina a partir de la velocidad de formación de 2-cloro-4-nitrofenol medido a 405 nm y es proporcional a la actividad de α -amilasa en la muestra.



REACTIVOS

Conservados entre 2° y 8°C. y protegidos de la luz, estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Componentes del reactivo:

Buffer MES pH 6,0 +/- 0,1	
CNP-G3	1,8 mM
Cloruro de Sodio	350 mM
Acetato Calcio	6 mM
Tiocianato de Potasio	900 mM
Azida de Sodio	0,01%

Preparación del Reactivo de Trabajo: los reactivos se proveen listo para su uso. Descartar el reactivo si su absorbancia es mayor de 0.6 a 405 nm. contra blanco de agua y paso de luz de 1 cm o presenta turbidez.

MUESTRA

Suero o plasma heparinizado libre de hemólisis. La amilasa es estable por 7 días conservada entre 18 y 25°C. y 2 meses a 4°C.

MATERIAL NECESARIO NO INCLUIDO

Espectrofotómetro manual o fotocolorímetro de filtros con cubeta termoestable, capaz de medir absorbancia a 405 nm, baño termoregulado, cronómetro, pipetas.

TECNICA

Llevar el reactivo a la temperatura de reacción (37° C.) y poner el espectrofotómetro en cero contra blanco de agua destilada.

Reactivo de trabajo	(mL)	1.0
Volumen de muestra	(mL)	0.025
Mezclar y transferir a la cubeta del espectrofotómetro. Incubar 60 segundos a la temperatura de reacción. Leer la absorbancia inicial (A1) a 405 nm. Repetir las lecturas a intervalos de 60 segundos, hasta por dos minutos.		

CALCULOS

Determine el cambio de Absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{min}$)

$$\text{Actividad } \alpha\text{-amilasa (UI/L)} = \Delta A/\text{min} \times 3178$$

$$\text{Factor} = \frac{V_t \times 1000}{\Sigma \text{CNP } 405 \times P \times V_m} = 3178$$

V_t = Volumen total de reacción

$\Sigma \text{CNP}405$ = Coef. de extinción milimolar del CNP a 405 nm. = 12,9

P = Espesor del paso de luz en la cubeta (1 cm.)

V_m = Volumen de muestra utilizado

CONTROL DE CALIDAD

- Es conveniente analizar junto con las muestras sueros controles valorados para Amilasa por este método. Se recomienda la utilización de los sueros controles VALTROL-N (código 210-100) y VALTROL-P (código 210-110).
- Si los valores obtenidos para los controles se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, el reactivo y el calibrador.
- Cada laboratorio debe disponer de su propio Control de Calidad y establecer las correcciones necesarias en caso de que no se cumpla con las tolerancias permitidas para los controles.

ADVERTENCIAS Y MEDIDAS DE PRECAUCION:

- El factor podría variar en autoanalizadores por diferencia en el espesor de paso de luz. En este caso utilizar un calibrador sérico VALTROL-C (código 210-130) para obtener el factor
- Utilizar sólo plasma heparinizado puesto que los otros anticoagulantes interfieren con la reacción.

- La saliva y la piel contienen α -amilasa. No pipetear el reactivo con la boca y evitar contacto con la piel.
- Utilizar material muy limpio para evitar la contaminación de los reactivos.
- Macroamilasa en la muestra puede causar un falso diagnóstico de pancreatitis aguda.
- Consultar en nuestra página WEB la ficha de seguridad de este reactivo y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación y eliminación de residuos.
- Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.
- Contiene Azida de Sodio 0.05% (Nº CAS 26628-22-8) No peligroso a esta concentración. No ingerir. En contacto con metales pesados, como tuberías de cobre o plomo, podría formar azida metal que es explosiva, elimine los residuos con grandes volúmenes de agua y/o de conformidad con las regulaciones locales.

ESPECIFICACIONES DE DESEMPEÑO:

-Linealidad: 0 - 2000 U/L.

Para valores superiores 2000 U/L, diluir la muestra con suero fisiológico y el resultado obtenido se multiplica por el factor de dilución.

-Límite de detección: 1 U/L.

- Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0.0004 A

-Interferencias: Medicamentos opiáceos podrían interferir (5).

-Exactitud: Los reactivos VALTEK no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otro reactivo comercial.

-Coef. Correlación = 0,999 (n = 125, rango 32 – 2112 U/lt)
r = 0,98x + 5,4

-Repetibilidad intraserie: n = 20

<u>Nivel</u>	<u>Media (U/L)</u>	<u>C.V.</u>
Normal	106	0,7 %
Patológico	418	0,3 %

-Reproducibilidad interserie: n = 20

<u>Nivel</u>	<u>Media (U/L)</u>	<u>C.V.</u>
Normal	109	2,1 %
Patológico	421	1,3 %

Estos datos han sido obtenidos utilizando un autoanalizador. Los resultados pueden variar al cambiar de instrumento o al realizar el procedimiento manualmente.

RANGOS DE REFERENCIA

Cada laboratorio debe establecer sus propios rangos de referencia en función de la población de pacientes. Los valores de referencia se ven influidos por la edad, sexo, dieta y ubicación geográfica.

Los rangos de referencia que se enumeran a continuación están tomados de la bibliografía existente.

Suero: 25 a 125 U/L

PRESENTACIONES DISPONIBLES

CODIGO	CONTENIDO	
035-150	Reactivo Sustrato	6 x 12 mL
300030	Reactivo Sustrato	4 x 20 mL
200030	Reactivo Sustrato	4 x 20 mL

BIBLIOGRAFIA

1. Wohlgemuth, J., Bio Chem 29 (1), 1908.
2. Somogyi, M., Biol Chem 125 (399), 1938.
3. Street, H.V., Close, J.R., Clin Chem Acta 1 (256), 1956.
4. Wallenfeis, K. et al, Carbohydrate Research 61:359 (1978)
5. Young D.S., effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.

REV Nº 2