

# AMILASA LÍQUIDA

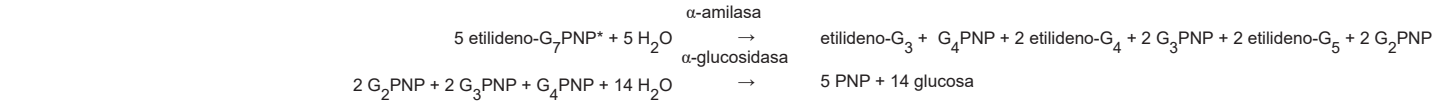
## MÉTODO IFCC

Para la determinación “in vitro” de la α-amilasa



### PRINCIPIO

El sustrato, un oligosacárido de maltosa, está unido por uno de sus extremos al grupo cromógeno, mientras que por el otro está bloqueado por un grupo etilideno. La degradación del sustrato se inicia al adicionar la α-amilasa de la muestra y los oligosacáridos de cadena más corta producidos interaccionan con el enzima α-glucosidasa con lo que se libera el grupo p-nitrofenol. El aumento de Abs a 405 nm es proporcional a la actividad α-amilasa de la muestra.



\* 4,6-etilideno(G<sub>7</sub>)-p-nitrofenil(G<sub>1</sub>)-α,D maltoheptaósido.

\* PNP = p-nitrofenol

### UTILIDAD DIAGNÓSTICA

La determinación de la actividad amilásica en suero u orina se utiliza para recabar datos para el diagnóstico de pancreatitis crónica o aguda. El 80% de pacientes con pancreatitis crónica presenta valores elevados de amilasa durante las primeras 24 horas. También se encuentran valores elevados de amilasa en casos de parotiditis, infarto intestinal, alteraciones del tracto biliar, cetoacidosis diabética o peritonitis. Algunos tumores de pulmón y ovario, pueden dar lugar, asimismo, a elevación del nivel de amilasa. Se detectan valores elevados en enfermos alcohólicos crónicos.

Una única prueba de laboratorio no permite establecer un diagnóstico. Los resultados se han de evaluar en el contexto de todos los datos clínicos y de laboratorio obtenidos.

### REACTIVOS

**Kit 1 x 60 mL. (Ref. 99 60 66).** Contiene:

A. 1 x 50 mL Tampón / Enzimas Ref. 99 60 88  
B. 1 x 10 mL Tampón / Sustrato Ref. 99 60 90

**Kit 1 x 120 mL. (Ref. 99 26 40).** Contiene:

A. 1 x 100 mL Tampón / Enzimas Ref. 99 26 45  
B. 1 x 20 mL Tampón / Sustrato Ref. 99 26 50

### PREPARACIÓN DEL REACTIVO DE TRABAJO

Los reactivos A y B, están listos para su uso. En caso de que se quiera trabajar como Monorreactivo: mezclar las cantidades deseadas, pero manteniendo la proporción 5 partes de A (Tampón / Enzimas) + 1 parte de B (Tampón / Sustrato).

### COMPOSICIÓN DEL REACTIVO DE TRABAJO

Las concentraciones en la disolución reactiva son:

Tampón Hepes pH 7,1 65 mM  
NaCl 95 mM  
MgCl<sub>2</sub> 15 mM  
Etilideno-G<sub>7</sub>PNP 17 mM  
α-glucosidasa ≥ 4500 U/L  
Estabilizantes y conservantes

### CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Los componentes del kit almacenados en refrigerador a 2-8°C, son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Una vez mezclados los componentes A y B dicha disolución monorreactiva es estable 1 semana a 2-8°C y 3 días a temperatura ambiente (≤25°C). Proteger de la luz.

### Indicaciones de alteración de los reactivos:

Presencia de partículas o turbidez. Blanco del reactivo de trabajo > 0,300.  
Un ligero color amarillento de la disolución reactiva no influye en la determinación.

### MATERIAL NECESARIO NO SUMISTRADO

Material común de laboratorio.  
Espectrofotómetro, analizador automático o fotómetro termostatzado a 37°C. Cubeta de 1cm de paso de luz.

### PRECAUCIONES

Los reactivos contienen azida sódica al 0,09%, manipular con precaución.  
Las indicaciones de seguridad se encuentran en la etiqueta de los productos. El calibrador debe considerarse como una muestra humana y por lo tanto potencialmente infeccioso. Utilizar protección adecuada. Se aconseja consultar la ficha de datos de seguridad antes de la manipulación del reactivo. La eliminación de residuos debe hacerse según la normativa local vigente.

### MUESTRA

Suero, plasma heparinizado u orina. Utilizar muestras exentas de hemólisis.  
En ausencia de contaminación bacteriana, la actividad α-amilásica en suero o plasma se mantiene en refrigerador a 2-8°C, durante 6 días. En orina dicha actividad se mantiene 10 días a 2-8°C y 2 días a temp. ambiente (≤ 25°C).

### CONTROL DE CALIDAD

Es recomendable la inclusión de sueros control, Seriscann Normal (Ref. 99 41 48) y Seriscann Anormal (Ref. 99 46 85) en cada proceso de medida para verificar los resultados.  
Se aconseja que cada laboratorio establezca su propio programa de control de calidad y los procedimientos de corrección de las desviaciones detectadas.

### PROCEDIMIENTO

Llevar el reactivo de trabajo y el instrumento a 37°C. Pipetear en la cubeta de reacción.

|                                   | Monorreactivo<br>mL | Birreactivo<br>mL |
|-----------------------------------|---------------------|-------------------|
| Reactivo de trabajo<br>(5A + 1 B) | 3,0                 | ---               |
| <b>Reactivo A</b>                 | ---                 | 2,5               |
| Muestra                           | 0,10                | 0,10              |
| <b>Reactivo B</b>                 | ---                 | 0,50              |

Mezclar e incubar durante 3 min.

A los 3 minutos poner el cronómetro en marcha y anotar la absorbancia.

Repetir las lecturas exactamente después de 1, 2 y 3 minutos.

Determinar la ΔAbs/minuto promedio de las tres lecturas.

### Lectura

Longitud de onda: 405 nm (400 – 420)

Blanco: medida frente a aire

Cubeta termostatzada, 1 cm de paso de luz.

### Técnica semimicro

Puede llevarse a cabo con la mitad de los volúmenes indicados anteriormente.

### CÁLCULOS

Se utiliza la fórmula indicada para obtener el factor para calcular las U/L:

$$\Delta\text{Abs}/\text{min} \times \frac{V_t \times 10^6}{C \times l \times V_s} = \text{U/L}$$

Donde:

V<sub>t</sub>: Volumen total de la mezcla de reacción

V<sub>s</sub>: Volumen de muestra

l: Paso de luz de la cubeta

C: Coeficiente de extinción molar de p-nitrofenol, 10.600

Determinar la ΔAbs/min promedio y multiplicar por el factor:

$$\begin{aligned} \text{U/L (37°C)} &= 2930 \times \Delta\text{Abs}_{405 \text{ nm}}/\text{min} \\ \mu\text{kal / L (37°C)} &= 48.8 \times \Delta\text{Abs}_{405 \text{ nm}}/\text{min} \end{aligned}$$

### VALORES DE REFERENCIA

**Suero / Plasma:** 28 – 100 U/L (0,47 – 1,67 μktal/L)

**Orina:** ≤ 460 U/L (≤ 7,67 μktal/L)

Los valores indicados son a título orientativo. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

### PRESTACIONES. CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Las características de funcionamiento de un producto dependen tanto del reactivo como del sistema de lectura empleado. Los resultados siguientes se han obtenido de forma manual.

Sensibilidad, como límite de detección: 12 U/L

Linealidad: Hasta 1500 U/L. Con actividades superiores se aconseja diluir la muestra 1/10 con salina (NaCl 0,9%) y repetir el ensayo. Multiplicar el resultado por 10

Exactitud, como % de recuperación: 98,8%

Precisión en la serie, como CV%: 1,56%

Precisión entre series, como CV%: 1,98%

Veracidad. Los resultados obtenidos con el reactivo no presentan diferencias significativas al compararlo con el reactivo considerado de referencia

Los datos detallados del estudio de las prestaciones del reactivo están disponibles bajo demanda.

### INTERFERENCIAS

No hay interferencia por la bilirrubina hasta 15 mg/dL ni por la hemoglobina hasta 450 mg/dL.

### NOTAS

Debe evitarse la contaminación por saliva o sudor del material o de las muestras usadas, pues al contener α-amilasa falsearían los resultados.

### AUTOANALIZADORES

Adaptaciones a distintos analizadores automáticos están disponibles bajo demanda.

### BIBLIOGRAFÍA

Junge, W., Troge, B., Klein, G., Poppe, W., Gerber, H. (1989). Clin. Biochem. 22, 109 – 114.  
Lorentz, K., (2000). Clin.Chem., 46, 644-649.



# AMYLASE LIQUID

## IFCC METHOD

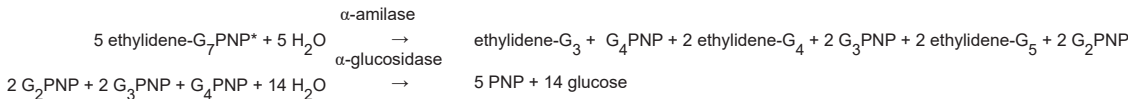
For “in vitro” determination of α-amylase



### PRINCIPLE

The p-NP group is bonded to a maltose oligosaccharide with a blocked end by ethylidene. α-amylase reacts with the substrate producing lower chain oligosaccharides that, after the action of α-glucosidase, liberate the p-NP coloured group.

The Abs at 405 nm is directly related to α-amylase activity of the sample.



---

---

### Pour la détermination "in vitro" de l' $\alpha$ -amylase

