

**REACTIVO PARA AMILASA**
**USO:**

Para la determinación cuantitativa de la actividad de amilasa en suero humano.

**SIGNIFICADO CLINICO:**

La determinación de la actividad de la amilasa en suero se pide comúnmente para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades del páncreas.

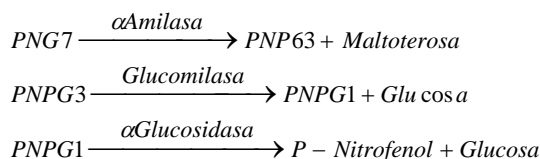
**HISTORIA DEL METODO:**

La amilasa se cuantificó primero por un método indométrico introducido por Wohlegemuth en 1908. Somogyi introdujo en 1938 un procedimiento que estandarizó las cantidades de algodón y de yodo. Su trabajo fue base para los métodos ampliamente usados de amilaclastia y sacarogenicos las desventajas de estos métodos incluyen los largos periodos de incubación, interferencia endogena de la glucosa y colores de reacción inestables que resultan en reproducibilidad pobre. Reinderknecht introdujo un almidón teñido en 1967 que era relativamente fácil de hacer. Aunque el procedimiento utilizó un sustrato insoluble, sin linealidad y requería de centrifugación o filtración.

Los procedimientos turbidimétricos fueron introducidos los cuales son rápidos pero requieren instrumentación especial y tienen dificultad para producir soluciones estables y reproducibles de almidón. Algunos procedimientos enzimáticos han sido sugeridos incluyendo uno que utiliza el sustrato maltotetrosa.

Estos métodos representan una significativa mejora en la medición de la amilasa pero, necesita de periodos de incubación largos, tienen posibilidades de interferencia de glucosa endogena y una serie de otras interferencias potenciales con la formación de NADH.

Wallenfels introdujo el P-Nitrofenilglycosido como sustrato definido para la determinación de la amilasa como un procedimiento que elimina la interferencia de glucosa endógena y piruvato. El procedimiento presente está basado en modificaciones de Wallenfels, usando como sustrato P-Nitrofeniloa D-Malto-Heptosido para reducir la degradación espontánea del sustrato por a Glucosidasa y Glucominasa. La prueba se hace de una forma cinética con un periodo de tiempo corto y ofrece mayor estabilidad que las metodologías de Amilasa anteriores.

**PRINCIPIO:**

**REACTIVOS:**

La concentración se refiere al reactivo reconstituido: P-Nitrofenil-ox-D-Maltoheptosido 0.7mm,  $\alpha$ -Glucosidasa (Microbial)  $\geq 10,000$  u/l Cloruro de Sodio 50 mm Cloruro de Calcio 5 mm, Buffer PH  $6.7 \pm 0.1$  Surfactante, filtro no reactivo con ácido de sodio (0.01 %) como preservativo (ver precauciones).

**PRECAUCIONES:**

1. Este reactivo es para diagnóstico "In Vitro" solamente.
2. Este reactivo contiene ácido de sodio. (0.01%) como preservativo. No se ingiere. Puede reaccionar con cobre y plomo para formar metales ácidos explosivos.

**PREPARACION DEL REACTIVO:**

1. Reconstituya con el volumen de agua indicado cada vial, agite hasta disolver.
2. No pipete con la boca. Evite contaminación con amilasa salival.

**ALMACENAMIENTO DEL REACTIVO:**

1. Almacene el reactivo en seco (2-8°C).
2. El reactivo reconstituido es estable por 10 días a temperatura ambiente (18-25°C) y 60 días refrigerado (2-8°C).

**DETERIORO DE REACTIVO:**
**No use si:**

1. La absorción del reactivo es mayor de 0.600 cuando se mide a 405nm contra agua en una cubeta de 1 cm de espesor.
2. El reactivo falla en los parámetros de desempeño.

**RECOLECCION Y MANEJO DE MUESTRAS:**

1. La muestra debe ser suero no-hemolizado.
2. Los anticoagulantes como citrato y EDTA, inhiben el calcio que se requiere para la actividad de la amilasa, por lo tanto no se debe usar el plasma con esos anticoagulantes.
3. La amilasa en suero es estable una semana a temperatura ambiente (18-25°C) y dos meses cuando es refrigerado (2-8°C).

**INTERFERENCIAS:**

1. Un cierto número de drogas y sustancias afectan la determinación de la amilasa.
2. Se ha encontrado que la bilirrubina (20 mg/dl), glucosa (500mg/dl) hemoglobina (250 mg/dl) urea (50mg/dl) y ácido úrico (20 mg/dl), tiene efectos en este proceso.

**MATERIALES PROPORCIONADOS:**

Reactivo de Amilasa.

**MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS:**

1. Instrumentos de pipeteo.
2. Tubos y gradilla de prueba.
3. Reloj.
4. Block térmico o baño maría (37°C).
5. Espectrofotómetro capaz de leer 405nm (400-420nm). La cubeta puede ser de temperatura controlada mantenida a temperatura (37°C) durante el ensayo.

**PROCEDIMIENTO AUTOMATIZADO:**

Vea las instrucciones específicas del instrumento.

**PROCEDIMIENTO MANUAL:**

1. Reconstituye de acuerdo a instrucciones
2. Pipeteo 1.0ml de reactivo en tubo marcado como control, paciente, etc. **NO PIPETEE CON LA BOCA**
3. Pre-incube los tubos 37°C por 5 minutos.
4. Ponga el espectro a cero con agua a 405 nm.
5. Agrade 0.020 mm (20ul) de muestra y lea inmediatamente.
6. Continúe lecturas cada 30 segundos por dos minutos.

- Determine la diferencia de absorción por minuto ( $\Delta$  Abs./min).
- Multiplique la  $\Delta$  Abs./min por 7123 para obtener el resultado en u/l.

**NOTAS DE PROCEDIMIENTO:**

Las muestras que exceden 2500 u/l seben ser diluidas con un volumen igual de solución salina y corra de nuevo. multiplique el resultado por dos.

**CALIBRACION:**

Se estandariza por la absorción milimolar del P-Nitrofenol que es de 7.16 a 405 nm. Bajo condiciones de prueba descritas.

**CONTROL DE CALIDAD:**

La validez de la reacción debe ser monitoreada por el uso de suero control normal y anormal para amilasa.

**CALCULOS:**

$$\frac{\Delta \text{Abs.} / \text{min} \times TV \times 1000}{MMA \times SV + LP} = U / L \alpha - \text{Amilasa en muestra.}$$

$$MMA \times SV + LP$$

**DONDE:**

- $\Delta$  Abs/min = Diferencia de abrocción por minuto.
- TV = Volumen total de ensayo (1.020 ml).
- 1000 = Conversión de u/ml a u/l
- MMA = Absorción milimolar del P-Nitrofenol (7.16)
- SV = Volumen de muestra (0.020 ml).
- LP = Trayecto de luz (1 cm)

**UNIDADES SI:**

Para convertir a unidades SI (nKal/L). Multiplique la u/l por 16.67.

**LIMITACIONES:**

Las muestras que exceden el limite de linearidad (2.500 u/l) se deben diluir con un volumen igual de salina y correr de nuevo. Multiplique por dos.

**VALORES ESPERADOS:**

En suero: 0-93 u/l.  
Los valores dependen de la edad, sexo, dieta y localización geográfica, cada laboratorio debe establecer su propio rango.

**DESEMPEÑO:**

- Linearidad: 2,500 u/l.
- Comparación: Se hizo un estudio comparativo entre este procedimiento y un reactivo similar que usa Benziliden bloqueado (PNPG7). El coeficiente de correlación fué de 0.999 y la ecuación de regresión fué  $y=0.98 X -0.5$  (Rango=15-771).
- Precisión:

Entre Pruebas                      Prueba a prueba

Conc.	D.E.	C.V.%	Conc.	D.E.	C.V.%
51	2.0	3.9	48	0.6	1.3
492	2.6	0.5	489	7.9	1.6

Sensibilidad bajo las condiciones descritass, U/L de actividad de amilasa de una  $\Delta$  Abs/min de 0.00014.

**REFERENCIAS:**

- Wohlegemuth, J., Bio Chem 29.1 (1908).
- Somogyi, M., J, Biol Chem. 125.399 (1938)
- Street, H.V., Close, J.R., Clin Chim Acta 1:256 (1956)
- Henry, R.J., Chiamori, N., Clain Chem 6.434 (1960)
- Rinderknetch, H:P et al Experientia 23.805 (1967)
- Zinterholer, L. et al Climb Chem. Acta 43.5 (1973)

- Tietz, N.W. et. Abs of Proc. of Intl seminar and Workshop on Enzimology, Chicago, III (May 1972).
- Schlwarz II. W., Artzl. Lab 17.340 (1971)
- Pierre K:J et al Clin Chem 22.1219 (1976).
- Kaufman, R.A., Tietz, Nw., Clin. Chem 26/7.851 (1980).
- Wallenfeis, K., et al, Carbohydrate Research 61.359 (1968).
- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders Company, pp. 625-627 (1982).
- Elking, -m.P. Kabol, H.J., Amer. J. Hosp. Pharm. 25.485 (1968).
- Bogich, A. et al, Gastroenterology 26.697 (1954).
- Young D.S., et al, Clin Chem. 21.ID (1975).

Rev 11/93

DISTRIBUIDO POR:



**DISTRIBUOTOR:**  
**MYM Laboratory & Medical Supply, Inc.**  
 8684 Ave. de la Fuente Ste. 14  
 San Diego CA. 92154  
 Tel. (619) 710-0126 Fax. (619) 710-0297  
 www.mymysupply.com  
 email: mail@mymysupply.com