α- Amilasa

CNPG$_3$. Cinético. Líquido

Determinación cuantitativa de α-amilasa (AMS)

CE IVD

PRESENTACION

Ref.: 101-0572	Cont.: 20 x 3 mL
Ref.: 101-0682	Cont.: 2 x 100 mL

Conservar a 2-8ºC

SIGNIFICADO CLÍNICO

La α-amilasa (AMS) es una enzima que ayuda a digerir el glucógeno y el almidón. Se produce principalmente en las glándulas salivales y el páncreas exocrino. Su determinación se realiza principalmente para diagnosticar o controlar enfermedades del páncreas como pancreatitis crónica o aguda. Puede reflejar también enfermedad de la vesícula biliar, algunos problemas gastrointestinales y otros trastornos[2,5,6].

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La α-amilasa hidroliza el 2-cloro-4-nitrofenil-α-D-maltotriósido (CNPG3) a 2-cloro-4-nitrofenol (CNP) y forma 2-cloro-4-nitrofenil-α-D-maltoside (CNPG2), maltotriosa (G3) y glucosa (G), según la siguiente reacción:

$$10\ CNPG_3 \xrightarrow{Amilasa} 9\ CNP + 1\ CNPG_2 + G_3 + G$$

La velocidad de formación de 2-cloro-4-nitrofenol, determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de α-amilasa en la muestra ensayada[1].

REACTIVOS

R (Nota 3)	MES pH 6,0	100 mmol/L
	CNPG3	2,25 mmol/L
	Cloruro sódico	350 mmol/L
	Acetato cálcico	6 mmol/L
	Tiocianato potásico	900 mmol/L
	Ácida sódica	0,95 gr/L

PREPARACIÓN

Reactivo listo para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8º C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Una vez abierto el reactivo es estable 60 días, si se cierra inmediatamente después de su uso y se conserva a 2-8º C.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia del Blanco a 405 nm ≥ 0,40.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 405 nm.
- Baño termostatable a 37º C (Nota 1).
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio(Nota 2).

MUESTRAS

- Suero o plasma[1], separado lo antes posible de los hematies. Como anticoagulante se recomienda la heparina.
- Orina, ajustar el pH aproximadamente a 7,0 antes de conservar.

Estabilidad: 1 mes a 2-8º C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:
   Longitud de onda: . . . . . .405 nm
   Cubeta:. . . . . .1 cm paso de luz
   Temperatura constante: . . . . . 37º C
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
3. Pipetear en una cubeta:

	Suero o plasma	Orina
R (mL)	1,0	1,0
Muestra (µL)	20	10

4. Mezclar, incubar 30 segundos.
5. Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronometro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos.
6. Calcular el promedio de la diferencia de absorbancia por minuto (ΔA/min).

CÁLCULOS

Suero o plasma ΔA/min x 3954 = U/L AMS

Orina ΔA/min x 7908 = U/L AMS

Unidades: La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1 µmol de substrato por minuto, en condiciones estándar. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).

Factor de conversión: U/L x 0,01667 = µkat/L.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:
Contro-N (Ref. 101-0083 y 101-0252) y Contro-P (Ref. 101-0084 y 101-0253).
Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica.
Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA[3]

Suero o plasma Hasta 90 U/L de α-amilasa
Orina Hasta 450 U/L de α-amilasa

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección 0,2439 U/L hasta el límite de linealidad 2200 U/L.
Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (U/L)	77	194	77,2	197
SD	1,12	2,22	1,08	2,96
CV (%)	1,45	1,15	1,39	1,50

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,00025 ΔA/min.
Exactitud: Los reactivos CHRONOLAB (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).
Los resultados obtenidos fueron los siguientes:
Coeficiente de regresión (r): 0,98628.
Ecuación de la recta de regresión: y=0,746x - 1,2697.
Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

La hemólisis interfiere en los resultados[1]. La actividad α-amilasa puede ser inhibida por agentes quelantes como citrato y EDTA.
Se han descrito varias drogas y otras substancias que interfieren en la determinación de la α-amilasa[3,4].

NOTAS

1. La α-amilasa es temperatura-dependiente, los ensayos realizados a temperaturas <37º C o >37º C pueden variar los resultados.
2. La saliva y el sudor contienen α-amilasa. Evitar el pipeteo con la boca y el contacto de la piel con el reactivo o material empleado.
3. Contiene tiocianato potásico. Evitar inhalación o contacto del reactivo con la piel y ojos. En tal caso, lavar la piel y los ojos con abundante agua y consultar a un médico.
4. **CHRONOLAB dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

BIBLIOGRAFÍA

1. Ying Foo A et al. Amylase measurement with 2-chloro-4nitrophenyl maltrotrioside as substrate. Clin Chim 272, 1998; 137-147.
2. McNeely M. Amylase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1112-116.
3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
5. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
6. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

CHRONOLAB SYSTEMS, S.L., Travessia Prat de la Riba 34 B, 08849 Sant Climent de Llobregat, Barcelona, Spain
Tel. +34 617722466, www.chronolab.com, e-mail: info@chronolab.com