

# α-AMILASA

## Uso:

Para la determinación cuantitativa de la actividad α-Amilasa en el suero utilizando un procedimiento manual o automatizado.

## Principio:

α-Amilasa hidroliza el 2-cloro-4-nitrofenil-α-D-maltotriósido (CNP G3) para liberar 2-cloro-4- nitrofenol (CNP) y forma 2-cloro-4-nitrofenil-α-D-maltósido (CNP G2), maltotriosa (G3) y glucosa (G) de acuerdo con la siguiente reacción:



La tasa de formación de 2-cloro-4-nitrofenol, medido fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de α-Amilasa presente en la muestra.

## Significado Clínico:

α-Amilasa (AMS) es una enzima que ayuda a digerir el glucógeno y el almidón. Es producida principalmente por el páncreas exocrino y las glándulas salivales. Esta determinación se realiza principalmente en el diagnóstico o para el control de enfermedades del páncreas como pancreatitis aguda o crónica. También puede reflejar enfermedad biliar o gastrointestinal y otros trastornos.<sup>2,5,6</sup> El diagnóstico clínico no debe realizarse basado en un único ensayo, sino que debe integrar los datos clínicos y de laboratorio.

## Preparación del Reactivo:

No requiere preparación.

## Composición del Reactivo:

MES 100 mmol/L, pH 6.0  
CNP G3 2.25 mmol/L  
Cloruro de Sodio 350 mmol/L  
Acetato de Calcio 6 mmol/L  
Tiocianato de Potasio 900 mmol/L  
Azida de Sodio 0.95 g/L

## Almacenamiento y Estabilidad del Reactivo:

El reactivo de α-Amilasa almacenado sin abrir a 2°C a 8°C es estable hasta la fecha de caducidad mostrada en la etiqueta del frasco. Una vez abierto, el reactivo α-Amilasa es estable durante 30 días, a menos que pase su fecha de caducidad. **NO CONGELAR.**

## Recolección y Manipulación de la Muestra:

- La prueba se puede realizar en suero o plasma. Para el suero, la sangre se extrae en un tubo que no contenga anticoagulante y permita la coagulación. El suero es separado del coágulo. Se recomienda un límite máximo de dos horas a partir del momento de la recolección.
- El suero o plasma separado no debe permanecer a temperatura ambiente por más de 8 horas. Si los análisis no se completan dentro de 8 horas, suero y plasma deben almacenarse a 2°C - 8°C. Si los análisis no se completan en 48 horas, o las muestras separadas se deben almacenar más de 48 horas, se deben congelar a -15°C - -20°C. Las muestras congeladas deben descongelarse sólo una vez. El analito puede deteriorarse en muestras que han sido congeladas y descongeladas repetidamente.
- Se recomienda que los análisis de orina se realicen dentro de las 2 horas de la recogida debido a la inestabilidad de la amilasa en la orina ácida, el pH de la muestra se debe ajustar a la gama alcalina y ser almacenado a 4°C. Para las muestras cronometradas, el recipiente se debe mantener en el refrigerador o en hielo durante el periodo de recogida.
- En cuanto al plasma, añadir la sangre total directamente en un tubo que contenga anticoagulante. Anticoagulantes aceptables se listan en la sección de "limitaciones".

## Calibración:

No se requiere calibración.

## Materiales Necesarios, Pero No Suministrados:

Al menos dos niveles de material de control.

## Limitaciones:

- Los anticoagulantes oxalato de potasio, fluoruro de sodio, citrato de sodio y EDTA se encontró que son incompatibles con este método.
- Los anticoagulantes heparina de amonio, heparina de sodio y heparina de litio se encontraron ser compatibles con este método.

## Interferencia:

- Muestras con evidencia de hemólisis no se deben utilizar.
- Muestras lipémicas de >3+ se deben centrifugar y el análisis realizado en el infranadante.
- Piruvato a un nivel de 2 mg/dL puede causar disminución de resultados.
- En este método, consulte el trabajo de Young para una revisión de drogas y una lista completa de los efectos de estas sustancias a los niveles de α-Amilasa.

## Valores Esperados:

Suero: 25-125 U/L.

## Precauciones:

- Para el uso de diagnóstico in vitro solamente.
- Puesto que todas las muestras son potencialmente infecciosas, deben ser manejadas con precauciones y prácticas apropiadas de acuerdo con el nivel de bioseguridad 2, tal como recomendado por el Manual NIH Bioseguridad en Laboratorios de Microbiología y Biomedicina de los EE.UU., y de acuerdo con las regulaciones nacionales y locales relacionadas con las medidas de seguridad de este tipo de materiales.
- Cada laboratorio tiene que realizar pruebas de control de calidad para asegurar que los resultados sean confiables antes de ejecutar las pruebas de muestras.

## Procedimiento Manual:

- Prepare el reactivo de trabajo de acuerdo a las instrucciones.
- Pipetear 1.0 mL de reactivo en los tubos etiquetados como "Control", "Paciente", etc.
- Pre-caliente todos los tubos a 37°C durante al menos 3 minutos.
- Cero el espectrofotómetro con agua a 405 nm. Añadir 0.025 mL (25 µL) de la muestra y leer después de 60 segundos.
- Continuar la lectura cada 60 segundos durante 2 minutos.
- Determinar las diferencias de absorción media por minuto (ΔAbs./Min.).
- Multiplique el (ΔAbs./Min.) por 3178 para obtener resultados en U/L.

## Calibración:

El procedimiento está estandarizado por medio de la capacidad de absorción milimolar de 2-cloro-p-nitrofenol que es 12.9 a 405 nm en las condiciones de prueba descritas.

## Cálculos:

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

Donde:

ΔAbs. Min. = diferencia / absorbancia por minuto

TV = volumen total de ensayo (1.025 mL)

1000 = Conversión de U/mL a U/L

MMA = absorbilidad milimolar de 2-cloro-p-nitrofenol (12.9)

SV = volumen de la muestra (0.025 mL)

LP = Haz de luz (1 cm)

$$\frac{\Delta \text{Abs./Min} \times 1.025 \times 1000}{12.9 \times 0.025 \times 1.0} = \Delta \text{Abs./Min} \times 3178 = \text{U/L } \alpha\text{-Amilasa}$$

Ejemplo:

Si ΔAbs./min. = 0.03, luego 0,03 x 3178 = 95 U/L.

## Nota:

Para convertir a las unidades del SI (nKat/L) multiplicar el valor U/L por 16.67.

## Características de Rendimiento:

1. *Rango Analítico:* 13-2400 U/L

Para el analito de reactivo α-Amilasa, este método ha demostrado ser lineal de 13 a 2400 U/L.

2. *Comparación:* Un estudio comparativo se realizó en un analizador Beckman CX System con 40 muestras. Reactivo Beckman Coulter de amilasa se utilizó para

comparar con el reactivo de amilasa. Los resultados de este estudio produjeron un coeficiente de correlación de 0.999 con una ecuación de regresión de

$y = 1.0253x - 7.0454$ .

3. *Precisión:* Se determinó la precisión dentro de corridas para el ensayo de α-Amilasa siguiendo una modificación del NCCLS EP5-A. Dos sueros humanos comerciales se probaron en un analizador Mindray BS200 25 veces.

Muestra	Muestra 1	Muestra 2
N	25	25
Promedio (mg/dL)	61	376
Desviación Estándar (mg/dL)	0.97	5.43
Coefficiente de Variación (%)	1.6	1.4

Precisión de Corridas por Día para el reactivo de amilasa se determinó siguiendo una modificación del NCCLS EP5-A. Dos sueros humanos comerciales se probaron en un analizador Mindray BS200 cinco veces al día durante cinco días para un total de 25 valores.

Muestra	Muestra 1	Muestra 2
N	25	25
Promedio (mg/dL)	62	391
Desviación Estándar (mg/dL)	1.13	7.31
Coefficiente de Variación (%)	1.8	1.9

## Referencias:

- Richterich R. 1969. Clinical chemistry. Theory and Practice, A.P. New York.
- Caraway W.T. 1959. Am. Clin.32:97.
- Tiez, N. W., "Specimen Collection and Processing; Sources of Biological Variation," Textbook of Clinical Chemistry, 2<sup>nd</sup> Edition, W.B. Saunders, Philadelphia, PA (1994)
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Approved Guideline, NCCLS publication C28-A, Villanova, PA (1994).
- Henry, J. B., ed., Clinical Diagnostics and Management by Laboratory Methods, 18<sup>th</sup> Edition, W.B. Saunders, Philadelphia.
- Tietz, N.W., ed., Clinical Guide to Laboratory Tests, 2<sup>nd</sup> Edition, W.B. Saunders, Philadelphia, PA (1990)
- National Committee for Clinical Laboratory Standards, Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Tentative Guideline, NCCLS Publication EP9-T, Villanova, PA (1993)
- National Committee for Clinical Laboratory Standards, Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Tentative Guideline, 2<sup>nd</sup> Edition, NCCLS publication EP5- T2, Villanova, PA (1992)
- National Committee for Clinical Laboratory Standards, National Evaluation Protocols for Interference Testing, Evaluation Protocol Number 7, Vol. 4, No, June 1984.
- Young, D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 3<sup>rd</sup> Ed., AACCPress, Washington DC, 1990, 3-104 thru 3-106.

