

Amilasa pancreática CC* FS **

Reactivo para la determinación cuantitativa *In Vitro* de amilasa pancreática en suero, plasma u orina en equipos fotométricos

Información de pedido

| Nº de pedido | Tamaño del envase |
|------------------|-------------------------------|
| 1 0551 99 10 021 | R1 5 x 20 mL + R2 1 x 25 mL |
| 1 0551 99 10 023 | R1 1 x 800 mL + R2 1 x 200 mL |
| 1 0551 99 10 930 | R1 4 x 20 mL + R2 2 x 10 mL |

Resumen [1,2]

Las alfa amilasas son enzimas hidrolíticas que transforman el almidón en maltosa. Las alfa amilasas del cuerpo humano proceden de diferentes órganos: la amilasa pancreática se produce en el páncreas y se elimina en el intestino, mientras que la amilasa salival se sintetiza en las glándulas salivales y se libera en la saliva. Dado que la amilasa pancreática y la amilasa salival presentan una homología estructural del 97%, sólo se pueden diferenciar adecuadamente con un test que utiliza dos anticuerpos monoclonales para la inhibición de la amilasa salival. La amilasa sanguínea se elimina a través de los riñones en la orina. Por tanto, el aumento de la actividad de la amilasa en el suero se refleja en el aumento de la actividad de la amilasa en la orina. La determinación de la alfa amilasa en suero y en orina se realiza principalmente para diagnosticar enfermedades pancreáticas y detectar el desarrollo de complicaciones. En el caso de una pancreatitis aguda, la actividad de la amilasa en la sangre aumenta pocas horas después del inicio del dolor abdominal, llega a su cota máxima después de aprox. 12 horas y vuelve a los valores de referencia después de 5 días como máximo. Aunque la amilasa pancreática es mucho más específica para detectar las enfermedades pancreáticas que la amilasa total, se recomienda la determinación adicional de la lipasa con el fin de confirmar una pancreatitis aguda.

Método

Test enzimático fotométrico por el cual el sustrato 4,6-etilideno-(G7)-p-nitrofenil-(G1)-alfa-D-maltoheptaosido (EPS-G7) de las alfa amilasas se fracciona en distintos componentes. En un segundo paso, éstas se hidrolizan con alfa glucosidasa, y se da lugar a la formación de glucosa y p-nitrofenol [1,2]. La amilasa salival se inhibe mediante dos anticuerpos monoclonales durante la fase de preincubación, de forma que el aumento de la absorbancia indica sólo la actividad de la amilasa pancreática en la muestra [3-5].

Principio

5 EPS-G7 + 5 H₂O $\xrightarrow{\text{alfa-amilasa}}$ 2 etilideno-G5 + 2 G2PNP
+ 2 etilideno-G4 + 2 G3PNP
+ etilideno-G3 + G4PNP

2 G2PNP + 2 G3PNP + G4PNP + 14 H₂O $\xrightarrow{\text{alfa-glucosidasa}}$ 5 PNP + 14 G
(PNP = p-nitrofenol, G = glucosa)

Reactivos

Componentes y concentraciones

| | | |
|--|---------|-------------|
| R1: Amortiguadora Good | pH 7,15 | 0,1 mol/L |
| NaCl | | 62,5 mmol/L |
| MgCl ₂ | | 12,5 mmol/L |
| alfa glucosidasa | | ≥ 2,5 kU/L |
| Anticuerpos monoclonales contra la amilasa salival (ratón) | | ≥ 31 mg/L |
| R2: Amortiguadora Good | pH 7,15 | 0,1 mol/L |
| EPS-G7 | | 8,5 mmol/L |

Conservación y estabilidad de los reactivos

Los reactivos se pueden conservar a una temperatura de 2 a 8 °C hasta el final del mes de caducidad indicado en el envase, protegido de la luz y siempre que se evite la contaminación una vez abiertos los frascos. ¡No se deben congelar los reactivos!

Advertencias y medidas de precaución

1. Puede producirse una actividad residual de la amilasa salival de hasta el 3%. En ocasiones muy raras, la actividad extremadamente elevada de la amilasa salival puede aumentar los valores de la amilasa pancreática. La saliva y la piel contienen alfa amilasa. Por ese motivo, no se deben pipetear nunca los reactivos con la boca, y es asimismo preciso evitar que dichos reactivos entren en contacto con la piel.
2. Los reactivos contienen azida de sodio (0,95 g/L) como conservante. No ingerir. Evitar el contacto con la piel y las mucosas.
3. El reactivo 1 contiene material de origen animal. Tratar el producto como potencialmente infeccioso según las precauciones universales y la buena práctica de laboratorio.
4. Excepcionalmente pueden obtenerse valores erróneos en muestras de pacientes con gammopatías [10].
5. Consultar las fichas de seguridad de los reactivos y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación de reactivos de laboratorio. Para un correcto diagnóstico, se recomienda evaluar los resultados según la historia médica del paciente, los exámenes clínicos así como los resultados obtenidos con otros parámetros.
6. ¡Únicamente para el empleo profesional!

Eliminación de residuos

Obsérvese la normativa legal al respecto.

Preparación de los reactivos

Los reactivos son listos para usar.

Equipo adicional necesario

Solución de NaCl 9 g/L
Equipo usual de laboratorio

Muestras

Suero, plasma (heparina o EDTA) u orina

Estabilidad al almacenamiento [8]:

| | | | |
|------------------|-----------|----|------------|
| en suero/plasma: | 7 días | de | 20 a 25 °C |
| | 7 días | de | 4 a 8 °C |
| | 1 año | a | -20 °C |
| en orina: | 2 días | de | 20 a 25 °C |
| | 10 días | de | 4 a 8 °C |
| | 3 semanas | a | -20 °C |

¡Congelar sólo una vez! ¡Desechar las muestras contaminadas!

Esquema de la prueba

Hay disponibles a petición aplicaciones para sistemas automáticos.

| | |
|------------------|-----------------------------|
| Longitud de onda | Hg 405 nm |
| Paso óptico | 1 cm |
| Temperatura | 37 °C |
| Método de medida | Respecto blanco de reactivo |

| | Blanco | Suero / Plasma | Orina |
|---|---------|----------------|---------|
| Muestra/Calibrador | - | 20 µL | 10 µL |
| Reactivo 1 | 1000 µL | 1000 µL | 1000 µL |
| Mezclar, incubar aprox. 3 min. y, a continuación, añadir: | | | |
| Reactivo 2 | 250 µL | 250 µL | 250 µL |
| Mezclar, leer la absorbancia después de 2 min. y empezar a cronometrar. Leer la absorbancia nuevamente después de 1, 2 y 3 min. | | | |

Cálculo

Con factor

De las lecturas de absorbancia calcular $\Delta A/\text{min}$. y multiplicar por el factor correspondiente:

$\Delta A/\text{min} \times 5670 = \text{actividad de la amilasa pancreática [U/L]}$

Con calibrador

$\text{Amil. P. [U/L]} = \frac{\Delta A/\text{min Muestra}}{\Delta A/\text{min Calibrador}} \times \text{Conc. Calibrador [U/L]}$

Factor de conversión

$\text{Amilasa pancreática [U/L]} \times 0,0167 = \text{Amilasa pancreática [\mu\text{kat/L}]}$

Calibradores y Controles

Para la calibración de sistemas fotométricos automatizados se recomienda el uso del calibrador DiaSys TruCal U. Este método es trazable al coeficiente de absorbancia molar. Utilizar DiaSys TruLab N y P para el control de calidad interno. Cada laboratorio debería establecer medidas correctoras en caso de obtener valores fuera del intervalo preestablecido.

| | Nº de pedido | Tamaño del envase |
|----------|------------------|-------------------|
| TruCal U | 5 9100 99 10 063 | 20 x 5 mL |
| | 5 9100 99 10 064 | 6 x 5 mL |
| TruLab N | 5 9000 99 10 062 | 20 x 5 mL |
| | 5 9000 99 10 061 | 6 x 5 mL |
| TruLab P | 5 9050 99 10 062 | 20 x 5 mL |
| | 5 9050 99 10 061 | 6 x 5 mL |

Características

Rango de medida

En equipos automatizados, el test sirve para determinar actividades de la amilasa pancreática hasta 2000 U/L.

En caso de un procedimiento manual, el test es apropiado para medir actividades de la amilasa pancreática que correspondan a un máximo de $\Delta A/\text{min}$ de 0,35.

Si se sobrepasa este valor, es preciso diluir las muestras con solución de NaCl (9 g/L) en una proporción 1+10 y multiplicar por 11 el resultado.

Especificidad/Interferencias

No aparecen interferencias con ácido ascórbico hasta 30 mg/dL, con bilirrubina hasta 40 mg/dL, con lipemia hasta 2000 mg/dL de triglicéridos y con hemoglobina hasta 150 mg/dL. Para más información sobre interferencias, véase Young DS [9].

Sensibilidad/límite de prueba

El límite inferior de prueba es de 5 U/L.

Precisión

| En la serie n = 20 | Valor medio (VM) [U/L] | Desviación estándar [U/L] | Coefficiente de variación (CV) [%] |
|-----------------------|------------------------------|------------------------------|---|
| Muestra 1 | 69,7 | 2,18 | 3,13 |
| Muestra 2 | 207 | 2,61 | 1,26 |
| Muestra 3 | 370 | 3,36 | 0,91 |

| De un día a otro n = 20 | Valor medio (VM) [U/L] | Desviación estándar [U/L] | Coefficiente de variación (CV) [%] |
|----------------------------|------------------------------|------------------------------|---|
| Muestra 1 | 68,3 | 1,48 | 2,17 |
| Muestra 2 | 204 | 1,61 | 0,79 |
| Muestra 3 | 371 | 3,14 | 0,85 |

Comparación de métodos

En la comparación de DiaSys Amilasa pancreática CC FS (y) con otro test comercial (x) se obtuvieron los siguientes resultados con 58 muestras:

$y = 0,97 x - 1,66 \text{ U/L}; r = 0,994$.

Valor de referencia [7]



| | Mujeres | | Hombres | |
|--------------|---------|-------------------|---------|-------------------|
| | U/L | $\mu\text{kat/L}$ | U/L | $\mu\text{kat/L}$ |
| Suero/Plasma | < 53 | < 0,88 | < 53 | < 0,88 |
| Orina | < 319 | < 5,32 | < 356 | < 5,93 |

Cada laboratorio debe comprobar si los valores de referencia indicados son adecuados para sus pacientes y si es necesario, determinar sus propios valores de referencia.

Bibliografía

- Lorentz K. α -Amylase. En: Thomas L, editor. Clinical laboratory diagnostics. 1ª ed., Francfort: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p.192-202.
- Moss DW, Henderson AR. Digestive enzymes of pancreatic origin. En: Burtis CA, Ashwood ER, editores. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3ª ed., Filadelfia: W.B Saunders Company; 1999. p.689-98.
- Gerber M, Naujoks K, Lenz H, Wulff K. A monoclonal antibody that specifically inhibits human salivary alpha-amylase. Clin Chem 1987; 33: 1158-62.
- Kruse-Jarres JD, Kaiser C, Hafkenschied JC, Hohenwallner W, Stein W., Bohner J et al. Evaluation of a new alpha-amylase assay using 4,6-ethylidene-(G7)-1-4-nitrophenyl-(G1)-alpha,D-maltoheptaoside as substrate. J Clin Chem Biochem 1989; 27: 103-13.
- Tietz NW, Burlina A, Gerhardt W, Junge W, Maffethermer P, Mural T et al. Multicenter evaluation of a specific pancreatic isoamylase assay based on a double monoclonal-antibody technique. Clin Chem 1988; 34: 2096-102.
- Junge W, Troge B, Klein G, Poppe W, Gerber M. Evaluation of a new assay for pancreatic amylase: Performance characteristics and estimation of reference interval. Clin Biochem 1989; 22: 109-14.
- Junge W, Wortmann W, Wilke B, Waldenstroem J et al. Development and evaluation of assays for determination of total and pancreatic amylase at 37 °C according to the principle recommended by the IFCC. Clin Biochem 2001; 34: 607-15.
- Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001. p. 16-17, 50-51.
- Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
- Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007; 45(9):1240-1243.

Fabricado por

  DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Alemania