

# Infinity™

## Reactivo Líquido Estable de Amilasa

### RESUMEN DEL PRODUCTO

|                          |   |                                     |
|--------------------------|---|-------------------------------------|
| Estabilidad              | : | Hasta fecha caducidad a 2-8°C       |
| Intervalo Lineal         | : | 10 - 2000 U/L (0,167 - 33,4 µkat/L) |
| Tipo de muestra          | : | Suero u Orina                       |
| Método                   | : | Cinético                            |
| Preparación del reactivo | : | Suministrado listo para su uso.     |

IVD

### USO PREVISTO

Este reactivo está pensado sólo para uso diagnóstico in vitro, para la determinación cuantitativa de la  $\alpha$ -amilasa (1,4- $\alpha$ -D-glucan glucanohidrolasa EC3.2.1.1) en suero u orina humanos en sistemas tanto manuales como automáticos.

### RELEVANCIA CLÍNICA<sup>1,2,3</sup>

La  $\alpha$ -amilasa se deriva principalmente de las glándulas salivares y del páncreas exocrino. La  $\alpha$ -amilasa cataliza la hidrólisis de los enlaces  $\alpha$ -1 $\rightarrow$ 4 glucosídicos del almidón y de otros polisacáridos relacionados para producir maltosa y otros oligosacáridos. La enzima es una molécula relativamente pequeña que se elimina rápidamente de los riñones y se excreta en la orina.

La  $\alpha$ -amilasa se mide con mayor frecuencia en la diagnosis de la pancreatitis aguda, cuando los niveles séricos pueden aumentar de forma extrema. En la pancreatitis aguda, el nivel de  $\alpha$ -amilasa comienza a aumentar aproximadamente 4 horas después de la aparición del dolor, alcanza un pico a las 24 horas, y permanece elevada durante 3-7 días.

La hiperamilasemia también se asocia con otros trastornos abdominales, enfermedad del tracto biliar, cetoacidosis diabética, disfunción glomerular grave, trastornos de las glándulas salivares, embarazo ectópico interrumpido y macroamilasemia.

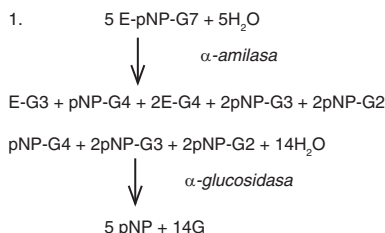
### METODOLOGÍA

Se encuentran disponibles varios procedimientos para el ensayo de la actividad de la  $\alpha$ -amilasa. Los métodos amiloclásticos miden la desaparición de sustrato e incluyen el método yodo-almidón. Los métodos sacarogénicos miden la producción de azúcares tales como la maltosa y la glucosa. Ambos métodos carecen de linealidad, sensibilidad y precisión en comparación con los métodos cromogénicos que dan lugar a un producto coloreado que se puede medir espectrofotométricamente.<sup>2</sup>

El reactivo de amilasa Infinity utiliza etilideno-pNP-G7 (E-pNP-G7) como sustrato. El uso de etilideno previene que las exoenzimas degraden el sustrato, de forma que en ausencia de  $\alpha$ -amilasa, no se observa cambio de color alguno. El sustrato también se conoce comúnmente como EPS.

Una vez que el sustrato se ha roto por acción de la  $\alpha$ -amilasa, los fragmentos más pequeños pueden sufrir una degradación adicional por parte de la  $\alpha$ -glucosidasa, lo que causa la liberación final del cromóforo.

Las series de reacciones implicadas en el sistema de ensayo son las siguientes:



Donde: G = Glucosa  
pNP = p-nitrofenol

La velocidad de formación del pNP es proporcional a la actividad de la  $\alpha$ -amilasa presente en la muestra, medida mediante la velocidad de aumento de la absorbancia a 405 nm (405-420nm).

### COMPOSICIÓN DEL REACTIVO

#### Ingredientes activos

|                                    |            |
|------------------------------------|------------|
| E-pNP-G7                           | 1,1 mmol/L |
| $\alpha$ -glucosidasa (microbiana) | >3500 U/L  |
| NaCl                               | 51 mmol/L  |
| Tampón                             | 50 mmol/L  |
| pH 7,0 $\pm$ 0,1 a 20°C.           |            |

#### Concentración

|            |
|------------|
| 1,1 mmol/L |
| >3500 U/L  |
| 51 mmol/L  |
| 50 mmol/L  |

### SÍMBOLOS EN EL ETIQUETADO DEL PRODUCTO

|               |                                   |  |  |
|---------------|-----------------------------------|--|--|
| <b>EC REP</b> | Representante autorizado          |  | Limitación de temperatura                      |
| <b>IVD</b>    | Para uso en diagnósticos in vitro |  | Usar hasta/Fecha de caducidad                  |
| <b>LOT</b>    | Código de lote/Número de lote     |  | PRECAUCIÓN. Consulte las instrucciones de uso. |
| <b>REF</b>    | Número de catálogo                |  | Fabricado por                                  |
|               | Consulte las instrucciones de uso |  |  |

**AVISO:** No ingerir. Evite el contacto con la piel y con los ojos. En caso de contacto, lave abundantemente las áreas afectadas con agua. El reactivo contiene Azida de Sodio que puede reaccionar con las tuberías de cobre o de plomo. Añada una gran cantidad de agua antes de verterlo. Para información adicional, consulte la Hoja de Datos de Seguridad del Reactivo Líquido Estable de Amilasa Infinity.

### PREPARACIÓN DEL REACTIVO

El reactivo se suministra listo para su uso.

### ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

#### Antes del uso:

Cuando se almacena refrigerado a 2-8°C, el reactivo es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la botella

#### Una vez que se ha abierto el reactivo:

Cuando se almacena bien cerrado a 2-8°C, el reactivo es estable hasta la fecha de caducidad.

#### Indicios del deterioro del reactivo:

- Turbidez,
- Absorbancia del reactivo > 1,0 UA a 405 nm (1 cm), y/o
- Imposibilidad de recuperar los valores de control dentro del intervalo asignado.

### TOMA Y MANEJO DE LAS MUESTRAS

**Suero:** Use suero no hemolizado.<sup>4</sup>

**Orina:** Las tomas aleatorizadas o temporizadas son muestras válidas.<sup>4</sup>

**Almacenamiento:** La  $\alpha$ -amilasa es excepcionalmente estable y las muestras séricas se pueden almacenar durante al menos 7 días a temperatura ambiente, y durante al menos 1 mes a 4°C ó -20°C.<sup>2</sup> Las muestras de orina son estables hasta 7 días almacenadas a 4°C. En caso de que se prevea un retraso en el transporte de la muestra de orina al laboratorio, se recomienda el uso de un conservante químico tal como mertiolato (0,24 mmol/L).<sup>5</sup>

### EQUIPOS ADICIONALES NECESARIOS PERO NO PROPORCIONADOS

- Un analizador químico clínico capaz de mantener una temperatura constante (37°C) y de medir la absorbancia a 405 nm (405-420nm).
- Consumibles específicos del analizador, por ejemplo: copas para muestras.
- Material de control de ensayos normales y anormales.

### PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Se recomiendan los siguientes parámetros del sistema. El Grupo de Soporte Técnico suministra aplicaciones de instrumentos individuales tras solicitud.

#### PARÁMETROS DEL SISTEMA

|                                     |                                   |
|-------------------------------------|-----------------------------------|
| Temperatura                         | 37°C                              |
| Longitud de onda primaria           | 405 nm (405-420nm)                |
| Longitud de onda secundaria         | 480-600nm                         |
| Tipo de ensayo                      | Velocidad/cinética                |
| Dirección                           | Incremento                        |
| Muestra: Proporción de reactivo     | 1:40                              |
| p.ej. Vol de muestra:               | 7 µL                              |
| Vol de reactivo                     | 280 µL                            |
| Tiempo de retraso/retardo           | 60 segundos                       |
| Tiempo de lectura                   | 2 minutos                         |
| Límites del blanco de reactivo      | Bajo 0,0 UA                       |
| (405 nm, paso de luz de 1cm )       | Alto 1,0 UA                       |
| Linealidad                          | 10-2000 U/L                       |
| (consulte la sección de Linealidad) | (0,167 - 33,4 µkat/L)             |
| Sensibilidad Analítica              | 0,195 $\Delta$ mA/min por U/L     |
| (405 nm, paso de luz de 1cm )       | (11,7 $\Delta$ mA/min por µkat/L) |

#### CÁLCULOS

En general, el instrumento calcula los resultados de forma automática, como sigue:

**Actividad en U/L =  $\Delta$ Abs/min x Factor**

$$\text{Factor} = \frac{VT \times 1000 \times 1,27}{VM \times E \times P}$$

**Donde:**

VT = Volumen total de reacción en mL  
 1,27 = Factor de conversión del método (Véase la nota 2)  
 VM = Volumen de la muestra en mL  
 E = coeficiente de extinción molar del pNP a 405 nm = 10,13 (Nota 1).  
 P = Longitud del paso de la cubeta en cm.

**Ejemplo:**

$\Delta$ Abs/min = 0,02  
 Factor = 5140  
 Amilasa = 0,02 x 5140 = 103 U/L

**NOTAS**

- El coeficiente de extinción milimolar para el pNP en este sistema reactivo a 410 nm = 9,80, 415 nm = 9,17 y a 420 nm = 8,30.
- Con este factor, los valores obtenidos con el reactivo de amilasa Infinity a 405 nm / 37°C son comparables con los obtenidos con el método disponible anteriormente del PNP7 bloqueado.
- Los volúmenes del reactivo y de la muestra se pueden alterar de forma proporcional para acomodarse a los diferentes requerimientos del espectrómetro.
- Si el cambio en la absorbancia es mayor de 0,39/min, repita el ensayo con menos muestra o diluya con una disolución salina. Acuértese de ajustar el factor para el menor volumen de muestra o multiplicar el resultado final por el factor de dilución.
- Los resultados válidos dependen de un instrumento calibrado con precisión, de la distribución, y del control de la temperatura.
- Conversión de unidades: U/L x 16,67 x 10<sup>-3</sup> =  $\mu$ kat/L.

**CALIBRACIÓN**

No requerida. La velocidad de reacción se convierte a U/L de actividad por medio de un factor de cálculo. Consulte la sección de calibración de este folleto.

**CONTROL DE CALIDAD**

Para asegurar un control de calidad adecuado, se deberían introducir controles normales y anormales como muestras desconocidas:-

- Al menos una vez al día o según lo establecido por el laboratorio.
- Cuando se use una nueva botella de reactivo.
- Después de realizar un mantenimiento preventivo o de sustituir un componente crítico.

Los resultados de control que caen fuera de los límites superior o inferior de los intervalos establecidos indican que el ensayo puede estar fuera de control.

En tales situaciones se recomiendan las siguientes acciones correctoras:

- Repetir los mismos controles.
- Si los controles repetidos están fuera de los límites, preparar suero de control fresco y repetir la prueba.
- Si los resultados del material de control fresco aún permanecen fuera de los límites, repita la prueba con reactivo fresco.
- Si los resultados aún están fuera de control, contacte con el Servicio Técnico o con su distribuidor local.

**LIMITACIONES**

- Se llevaron a cabo estudios para determinar el nivel de interferencia debida a la hemoglobina, a la bilirrubina y a la lipemia. Se obtuvieron los siguientes resultados:

**Hemoglobina:** No se observa interferencia debida a hemoglobina hasta 522 mg/dL.

**Bilirrubina libre:** No se observa interferencia debida a bilirrubina libre hasta un nivel de 265  $\mu$ mol/L (15,5 mg/dL).

**Bilirrubina conjugada:** No se observa interferencia debida a bilirrubina conjugada hasta un nivel de 266  $\mu$ mol/L (16,7 mg/dL).

**Lipemia:** No se observa interferencia debida a la lipemia, medida como absorbancia a 630nm, hasta 1,045 UA.

- Young DS<sup>®</sup> ha publicado una amplia lista de medicamentos y sustancias que pueden interferir con este ensayo.
- Para evitar la posibilidad de contaminación con  $\alpha$ -amilasa, le rogamos se asegure de que el reactivo no entra en contacto con la saliva o con la piel.

**VALORES ESPERADOS**

Suero:\* A 37°C 35 - 140 U/L (0,585 - 2,34  $\mu$ kat/L)  
 A 30°C 27 -108 U/L (0,451 -1,80  $\mu$ kat/L)

Orina: 1 - 17 U/hora (0,017 - 0,284  $\mu$ kat/hora)<sup>7</sup>

\* Los valores indicados se derivaron de un estudio de 59 muestras normales y únicamente deberían servir como guía. Los valores a 30°C se calcularon simplemente como guía, utilizando un factor de conversión de la temperatura de 0,77. No obstante, no recomendamos el uso rutinario de factores de conversión de la temperatura. Se recomienda que cada laboratorio verifique este intervalo o derive un intervalo de referencia para la población que atiende.<sup>8</sup>

**DATOS DE COMPORTAMIENTO**

Los siguientes datos se obtuvieron usando el reactivo líquido estable de amilasa Infinity en un analizador químico clínico automatizado con un buen mantenimiento.

**IMPRECISIÓN**

La imprecisión se evaluó a lo largo de un período de 20 días usando dos niveles de controles comerciales y siguiendo el procedimiento NCCLS EP5-T.<sup>9</sup>

|   | NIVEL I   | NIVEL II  |
|---|-----------|-----------|
| Número de puntos de datos                   | 80        | 80        |
| Media (U/L / $\mu$ kat/L)                   | 42/0,701  | 341/5,69  |
| Dentro de un ensayo: SD (U/L / $\mu$ kat/L) | 2,2/0,037 | 3,2/0,053 |
| CV (%)                                      | 5,3       | 0,9       |
| Total: SD (U/L / $\mu$ kat/L)               | 3,4/0,057 | 8,9/0,149 |
| CV (%)                                      | 8,1       | 2,6       |

**COMPARACIÓN DEL MÉTODO**

Los estudios de comparación se llevaron a cabo usando otro reactivo de  $\alpha$ -amilasa similar disponible comercialmente. Se ensayaron las muestras de suero y de orina en paralelo y los resultados se compararon mediante una regresión de cuadrados. Se obtuvieron las siguientes estadísticas:

**Suero:**

Número de pares de muestras 60  
 Intervalo de los resultados de las muestras 24 - 465 U/L (0,401 - 7,77  $\mu$ kat/L)  
 Media de los resultados del procedimiento de referencia 67 U/L (1,12  $\mu$ kat/L)  
 Media de los resultados del amilasa Infinity 69 U/L (1,15  $\mu$ kat/L)  
 Pendiente 0,9425  
 Ordenada en el origen 1,8 U/L (0,030  $\mu$ kat/L)  
 Coeficiente de correlación 0,9970

**Orina:**

Número de pares de muestras 41  
 Intervalo de los resultados de las muestras 5 - 595 U/L (0,084 - 9,94  $\mu$ kat/L)  
 Pendiente 1,187  
 Ordenada en el origen -7,6 U/L (0,127  $\mu$ kat/L)  
 Coeficiente de correlación 0,9953

**LINEALIDAD**

Cuando se ejecuta según las recomendaciones, el ensayo resulta lineal entre 10 - 2000 U/L (0,167 - 33,4  $\mu$ kat/L). La linealidad en los instrumentos automatizados dependerá de la relación del volumen de muestra al volumen de reactivo utilizado y de la distribución de las mediciones. Se debería consultar la aplicación del instrumento específico.

**SENSIBILIDAD ANALÍTICA**

Cuando se realiza según las recomendaciones, la sensibilidad de este ensayo es de 0,195  $\Delta$ mA/min por U/L (11,7  $\Delta$ mA/min por  $\mu$ kat/L).

**BIBLIOGRAFÍA**

- JF Zilva and PR Pannall. "Plasma Enzymes in Diagnosis" in Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment. Lloyd-Luke London 1979: Chapter XV: 341-2
- Foo YA and Brosalki SB. Ann Clin. Biochem 1986; 23:624-37
- Bais R. Am. Jnl of Clin. Path 1982; 78: 184-8
- Clinical Chemistry Infobase: A Scientific & Management Cyclopedia. Pesce-Kaplan Publishers 1996; 2619-2620.
- Shepherd MDS and Mazzachi RD. The Clin. Biochem 1983; 4: 61-7
- Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests Third Edition 1990; 3: 34-6.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Burtis CA and Ashwood ER (Eds). Second Edition, WB Saunders Company, 1994;2178.
- Wachtel M et al. Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. NCCLS, 1984, NCCLS Publication EP5-T.



Fisher Diagnostics  
 a division of Fisher Scientific Company, LLC  
 a part of Thermo Fisher Scientific Inc.  
 Middletown, VA 22645-1905 USA  
 Phone: 800-528-0494  
 540-869-3200  
 Fax: 540-869-8132



MDCI Ltd.  
 Arundel House  
 1 Liverpool Gardens  
 Worthing, West Sussex BN11 1SL UK



REF

**Información de Pedidos**

| No de Catalogue | Configuración        |
|-----------------|----------------------|
| TR25421         | 2 x 125 mL           |
| 1174-200H       | 4 x 50 mL (Hitachi)  |
| TL25401         | 6 x 20 mL (ILab 600) |
| TR25456         | 2 x 28 mL            |
| TY25401         | 4 x 53 mL            |

© 2008 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. Hitachi is a registered trademark of Roche Diagnostics, Indianapolis, IN 46250. ILab 600 is a registered trademark of Instrumentation Laboratory Company, Lexington, MA 02421. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.