

# Infinity™

## Reactivo de Amilasa

### RESUMEN DEL PRODUCTO

Estabilidad	: 12 meses a 2 - 8°C
Intervalo Lineal	: 10 - 2000 U/L
Tipo de muestra	: Suero u Orina
Método	: Cinético
Preparación del reactivo	: Añadir un volumen especificado de agua destilada o desionizada.

### 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.

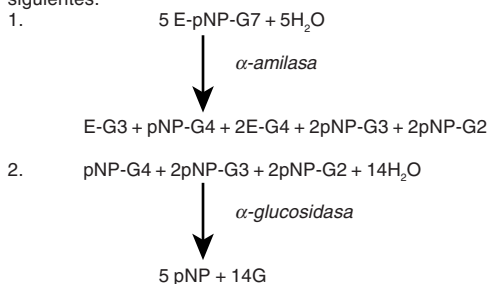
La hiperamilasemia también se asocia con otros trastornos abdominales, enfermedad del tracto biliar, cetoacidosis diabética, disfunción glomerular grave, trastornos de las glándulas salivares, embarazo ectópico interrumpido y macroamilasemia.

### METODOLOGÍA

Se encuentran disponibles varios procedimientos para el ensayo de la actividad de la  $\alpha$ -amilasa. Los métodos amilolíticos 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	Concentración
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.	

**AVISO:** 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.

### SÍMBOLOS EN EL ETIQUETADO DEL PRODUCTO

	Representante autorizado		Limitación de temperatura
	Para uso en diagnósticos in vitro		Usar hasta/Fecha de caducidad
	Código de lote/Número de lote		PRECAUCIÓN. Consulte las instrucciones de uso.
	Número de catálogo		Fabricado por
	Consulte las instrucciones de uso		T - Tóxico

Añada una gran cantidad de agua antes de verterlo. Para información adicional consulte la Hoja de Datos de Seguridad del reactivo de amilasa Infinity™.

R25 Tóxico por ingestión.

R32 En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.

S28 En caso de contacto con la piel, lávese inmediata y abundantemente con jabón y agua.

### PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reconstituya el reactivo con el volumen de agua destilada o desionizada indicado en la etiqueta de la botella. No pipetear con la boca.

### 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 y de la caja del kit.

#### Reactivo reconstituido:

Cuando se almacena bien cerrado a 2-8°C, el reactivo es estable durante al menos 12 meses o hasta la fecha de caducidad indicada, según cuál sea anterior.

#### 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 405nm (405-420 nm).
- Consumibles específicos del analizador, por ejemplo: copas para muestras.
- Agua destilada o desionizada para la preparación de los reactivos y equipos relacionados, por ejemplo: pipetas.
- 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 $\mu$ L
Vol de reactivo	280 $\mu$ L
Tiempo de retraso/retardo	60 segundos
Tiempo de lectura	2 minutos
Límites del blanco de reactivo (405 nm, paso de luz de 1cm )	Bajo 0,0 UA Alto 1,0 UA
Linealidad (consulte la sección de Linealidad)	10-2000 U/L
Sensibilidad (405 nm, paso de luz de 1cm )	0,195 $\Delta$ mA/min por U/L

### CÁLCULOS

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

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

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

**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:**

- $\Delta\text{Abs}/\text{min}$  = 0,02
- Factor = 5140
- Amilasa =  $0,02 \times 5140 = 103 \text{ U/L}$

**NOTAS**

1. 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.
2. 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 PNPG7 bloqueado.
3. Los volúmenes del reactivo y de la muestra se pueden alterar de forma proporcional para acomodarse a los diferentes requerimientos del espectrómetro.
4. Si el cambio en la absorbancia es mayor de 0,39/min, repita el ensayo con menos muestra o diluya con una disolución salina. Acuérdesse de ajustar el factor para el menor volumen de muestra o multiplicar el resultado final por el factor de dilución.
5. Los resultados válidos dependen de un instrumento calibrado con precisión, de la distribución, y del control de la temperatura.
6. Conversión de unidades:  $\text{U/L} \times 16,67 \times 10^{-3} = \mu\text{kat/L}$ .

**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 cada ocho horas.
- 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**

1. 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  $\mu\text{mol/L}$  (15,5mg/dL).

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

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

2. Young DS<sup>5</sup> ha publicado una amplia lista de medicamentos y sustancias que pueden interferir con este ensayo.
3. 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 (0,58 - 2,3  $\mu\text{kat/L}$ )  
A 30°C 27 - 108 U/L (0,45 - 1,80  $\mu\text{kat/L}$ )
- Orina:** 1 - 17 U/hora (0,02 - 0,28  $\mu\text{kat/hora}$ )<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 de amilasa Infinity™ en un analizador químico clínico automatizado con un buen mantenimiento. Los usuarios deberían establecer un comportamiento del producto en su analizador específico usado.

**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>

Dentro de un ensayo	NIVEL I	NIVEL II
Número de puntos de datos	80	80
Media (U/L)	42	341
SD (U/L)	2,2	3,2
CV (%)	5,3	0,9
<b>Total:</b>	<b>NIVEL I</b>	<b>NIVEL II</b>
Número de puntos de datos	80	80
Media (U/L)	42	341
SD (U/L)	3,4	8,9
CV (%)	8,1	2,6

**EXACTITUD**

Los estudios de comparación se llevaron a cabo usando otro reactivo de 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 a 465 U/L
Media de los resultados del procedimiento de referencia	67 U/L
Media de los resultados del amilasa Infinity™	69 U/L
Pendiente	0,9425
Ordenada en el origen	1,8
Coefficiente de correlación	0,9970

**Orina:**

Número de pares de muestras	41
Intervalo de los resultados de las muestras	5 a 595 U/L
Pendiente	1,187
Ordenada en el origen	-7,6
Coefficiente de correlación	0,9953

**LINEALIDAD**

Cuando se ejecuta según las recomendaciones, el ensayo resulta lineal entre 10 y 2000 U/L (0,2 - 33  $\mu\text{kat/L}$ ). 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**

Cuando se realiza según las recomendaciones, la sensibilidad de este ensayo es de 0,195  $\Delta\text{mA}/\text{minperU/L}$ .


**BIBLIOGRAFÍA**

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

© 2004 Thermo Electron Corporation. Reservados todos los derechos.

 Thermo Electron  
189-199 Browns Road,  
Noble Park, Victoria, 3174  
AUSTRALIA  
Phone: (03) 9790 4100  
Fax: (03) 9790 4155  
Email: sales.clinicalchemistry@thermo.com  
www.thermo.com/clinicalchemistry

Thermo Electron  
331 South 104th Street  
Louisville, CO, 80027  
U.S.A.  
Phone: (800) 558 9115  
Fax: (303) 581 6429

 MediMark Europe Sarl. 11, rue Emile Zola. BP 2322  
F-38033 Grenoble Cedex 2. France  
Phone: +33 (0) 4 76 86 43 22  
Fax: +33 (0) 4 76 17 19 82



REF	Información de Pedidos y Soporte Técnico		
	No de Catalogue	Configuración	
	TR25321	2 x 125 mL	
<b>Teléfono</b>	<b>Australia</b> 1800 333 110	<b>Internacional</b> 61 3 9790 4100	<b>U.S.A.</b> (800) 558 9115
<b>Facsímil</b>	(03) 9790 4155	61 3 9790 4155	(303) 581 6429