

REF 10217-4 4 x 39 mL

## Amilasa (AMY)

Cada compartimiento contiene una cantidad utilizable de 39 mL de reactivo.

### USO PREVISTO

El reactivo de AMY EasyRA se utiliza para la determinación cuantitativa de la actividad de la  $\alpha$ -Amilasa en suero humano (con heparina de litio como anticoagulante), usando el "Analizador de química clínica EasyRA" de MEDICA. Las mediciones de la amilasa se utilizan principalmente para el diagnóstico y tratamiento de la pancreatitis (inflamación del páncreas).

Utilizar únicamente para diagnóstico *in vitro*. Solo para uso profesional.

### RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La amilasa es una enzima que se produce en las glándulas exocrinas con la habilidad de dividir los enlaces 1,4 glucosídicos. La amilasa es secretada por los conductos pancreáticos y, luego, el conducto biliar hacia el duodeno donde tiene un rol muy importante en la digestión de carbohidratos complejos. En suero normal o en plasma, cerca de un 40% de la amilasa circulante es de origen pancreático, el resto proviene de las glándulas salivales. Niveles elevados de  $\alpha$ -amilasa sérica son importantes para el diagnóstico de pancreatitis y otros trastornos del páncreas.<sup>1-3</sup>

### PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Este análisis mide la actividad de AMY en suero a través del método cinético utilizando el sustrato cromogénico, 2-cloro-4 nitrofenol enlazado con maltotriosa (CNP<sub>3</sub>).<sup>4</sup> La amilasa hidroliza el sustrato CNP<sub>3</sub> para formar 2-cloro-4-nitrofenol (CNP), 2-cloro-4-nitrofenil- $\alpha$ -D-maltosido (CNP<sub>2</sub>), maltotriosa (G<sub>3</sub>) y glucosa (GLU).



El compuesto CNP se mide espectrofotométricamente a un pico de absorbancia de 405 nm. La tasa de formación de CNP es directamente proporcional a la actividad de  $\alpha$ -amilasa en la muestra.

### REACTIVO

|  |             |
|--|-------------|
| 2-cloro-4-nitrofenil- $\alpha$ -D-maltotriosido, (CNP <sub>3</sub> ) | 2,25 mmol/L |
| Cloruro de sodio   | 350 mmol/L  |
| Acetato de calcio  | 6,0 mmol/L  |
| Tiocianato de potasio  | 900 mmol/L  |
| Azida sódica   | 0,1 %       |
| Buffer MES   | pH 6,0      |

### PRECAUCIONES

1. Se deben seguir las guías de seguridad y buenas practicas de seguridad de en el laboratorios cuando se manipula cualquier reactivo. (CLSI, GP17-A2).
2. Evite su inhalación o el contacto con la piel y los ojos. En caso de contacto, lave la piel o los ojos con agua y consulte a un médico. Este reactivo no es compatible con ácidos fuertes.
3. El reactivo contiene 0,1 % de azida sódica que puede reaccionar al entrar en contacto con tubos de plomo y cobre y formar azidas de metal altamente explosivas. Consulte la hoja de datos de seguridad de materiales para obtener información sobre los riesgos, el peligro y la seguridad.
4. Como en todos los casos de procedimientos de evaluación de diagnóstico, los resultados se deben interpretar teniendo en cuenta todos los otros resultados de las evaluaciones y el estado clínico del paciente.
5. No utilice cubetas lavadas.

### INSTRUCCIONES PARA LA MANIPULACIÓN, EL ALMACENAMIENTO Y LA ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

#### VIDA UTIL: 24 MESES

El reactivo está listo para usar. El reactivo que no fue abierto es estable hasta la fecha de vencimiento indicada en la etiqueta, si se almacena a 2 °C - 8 °C y alejado de la luz. El reactivo es estable una vez cargado en el área refrigerada para reactivos del Analizador EasyRA por la cantidad de días programados en el chip RFID que se encuentra en el compartimiento del reactivo. No use el reactivo si se encuentra turbio o nebuloso o si no logra obtener valores de control de suero conocidos.

## RECOLECCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA/ESTABILIDAD

Debe utilizarse suero claro y no hemolizado. Centrifugue y retire el suero o el plasma lo antes posible después de su extracción. La AMY en suero permanece estable durante 7 días a 18 °C - 25 °C y por varios meses a 2 °C - 8 °C.<sup>5</sup> Se pueden utilizar tubos recubiertos de heparina de litio para la recolección de plasma.

## PROCEDIMIENTO

### Materiales suministrados

Compartimiento de reactivo amilasa (Medica Amylase Reagent Wedge), REF 10217

### Materiales adicionales necesarios

Medica EasyQC Chemistry/Electrolytes – Nivel A, REF 10793

Medica EasyQC Chemistry/Electrolytes – Nivel B, REF 10794

Método de diagnóstico Dye Test – Medica Precision Test Dye Wedge, REF 10764

Medica Cleaner Wedge – Chemistry & ISE, REF 10760 o

Medica Cleaner Wedge – Chemistry, REF 10761

### Instrucciones de uso

El reactivo está listo para usar. Retire la tapa del reactivo y colóquelo en la bandeja del Analizador EasyRA ubicada en el área de los reactivos. Una vez en el compartimiento, la estabilidad del reactivo (máximo 30 días) se programa en el chip RFID del compartimiento de reactivos.

**Nota:** Verifique que no haya espuma en la parte interna del cuello del compartimiento después de retirar la tapa y colocar el compartimiento en el Analizador EasyRA. Si encuentra espuma, retírela con un hisopo o una pipeta desechable antes de realizar el análisis.

### Calibración

No corresponde.

### Control de calidad

Se recomienda llevar a cabo dos niveles de control (normal y anormal) en el ensayo todos los días cuando se realice el análisis en el paciente y con cada cambio de lote del reactivo. Si en el ensayo del material de control no se obtienen los rangos de valores correctos, esto es indicador de deterioro del reactivo, un mal funcionamiento del instrumento o errores de procedimiento. Cuando se utilizan materiales de control de calidad, el laboratorio debe cumplir con las normas de control de calidad locales, estatales y federales.

### Resultados

Al finalizar el ensayo, el Analizador EasyRA calcula la concentración de AMY a partir de la variación de absorbancia por minuto, el volumen de la muestra, el volumen total, la longitud de trayectoria (cm.) de 0,6 y la absortividad molar de 12,9.

$$\text{AMY (U/L)} = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{Volumen Total } (\mu\text{l}) \times 1000)}{(\text{Absortividad Molar} \times \text{Paso de Luz}(\text{cm.}) \times \text{Volumen de la Muestra } (\mu\text{l}))}$$

### Valores esperados<sup>6</sup>

El rango de referencia para la AMY en suero y plasma es el siguiente:

Valor normal: 25 - 94 U/L (37 °C)

Estos valores son de referencia. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de valores debido a las diferencias que existen entre los instrumentos, los laboratorios y la población local.

### Limitaciones en los procedimientos (por ejemplo: si la muestra está por encima del rango del ensayo)

Sólo se deben utilizar muestras de suero no hemolizado.

La prueba de AMY es lineal a 1200 U/L. Si la variación de absorbancia por minuto ( $\Delta A/\text{Min}$ ) es superior a 0,281, que corresponde aproximadamente a 1200 U/L, los resultados se marcarán como "SD" (depleción de sustrato). Las variaciones de absorbancia por minuto superiores a este valor están por encima del rango lineal del análisis. Si el operador selecciona el icono "Re-run", se puede volver a probar la muestra usando la mitad (1/2) del volumen de muestra. Los resultados de los análisis repetidos se calculan para que reflejen el uso de un volumen inferior de muestra. Esto aumentará el rango a reportar del análisis de AMY a 2400 U/L.

## CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO<sup>7</sup>

### Rango a reportar

El rango a reportar es de 2 hasta 1200 U/L. El rango extendido es de 2 hasta 2400 U/L cuando se utiliza la mitad de la muestra (dilución 1:1).

### Inexactitud/Correlación (CLSI, EP9-A2)

La tabla a continuación detalla los datos obtenidos en una comparación sobre el rendimiento del reactivo Medica para AMY (y) en el Analizador EasyRA con un reactivo similar para AMY (x) en el Analizador Roche COBAS MIRA\*. Los datos que se muestran a continuación representan determinaciones únicas del Analizador EasyRA vs. el promedio de dos valores replicados obtenidos en el Analizador COBAS MIRA.

|                             |        |                        |                           |
|-----------------------------|--------|------------------------|---------------------------|
| Número de muestras          | 87     | Rango de muestras      | 2 hasta 1150 U/L.         |
| Pendiente                   | 1,0433 | Intercepto con y       | 5,5881                    |
| Coefficiente de correlación | 0,9981 | Ecuación de regresión: | $Y = 1,0433 * X + 5,5881$ |

La tabla a continuación detalla los datos obtenidos en una comparación de las muestras de suero pareado (x) y de plasma heparinizado con litio (y) usando el reactivo de fosfatasa alcalina de Medica en el Analizador EasyRA. Los datos que se muestran a continuación representan determinaciones únicas de plasma vs. el promedio de dos valores replicados de suero.

|                             |        |                       |                           |
|-----------------------------|--------|-----------------------|---------------------------|
| Número de muestras          | 78     | Rango de muestras     | 4 hasta 1061 U/L.         |
| Pendiente                   | 1,0247 | Intercepto con y      | -5,1770                   |
| Coefficiente de correlación | 0,9985 | Ecuación de regresión | $Y = 1,0247 * X - 5,1770$ |

\* Cobas Mira es una marca registrada de Roche Diagnostics, INC., Indianapolis, IN.

### Imprecisión (CLSI, EP5-A2)

Las medidas duplicadas de cada uno de los tres niveles del material de control de calidad se analizaron dos veces al día durante 20 días. Ambas ejecuciones de precisión están dentro de y la precisión total fue determinada de estos datos.

Dentro de la imprecisión corriente:

| Nivel del control de calidad U/L | Dentro de la depleción de sustrato actual U/L | Dentro del CV % |
|----------------------------------|---|-----------------|
| 296                              | 1,9   | 0,6             |
| 85                               | 0,7   | 0,8             |
| 45                               | 0,8   | 1,8             |

Imprecisión total:

| Nivel del control de calidad U/L | Imprecisión total de depleción de sustrato U/L | Imprecisión total del CV % |
|----------------------------------|--|----------------------------|
| 296                              | 2,9  | 1,0                        |
| 85                               | 0,9  | 1,1                        |
| 45                               | 0,9  | 1,9                        |

### Linealidad (CLSI, EP6-A)

Lineal desde 2,0 a 1200 U/L, con base en la regresión lineal  $Y = 1,0007 * X + 1,2297$ .

|                            |          |                 |
|----------------------------|----------|-----------------|
| Límite del blanco (LOB):   | 0,78 U/L | (CLSI, EP17-A). |
| Límite de detección (LOD): | 1,03 U/L | (CLSI, EP17-A). |

### Sustancias de interferencia (CLSI, EP7-A)

Menos del 10 % de interferencia fue clasificado como "interferencia no significativa".

Existe una interferencia negativa significativa a niveles de hemoglobina sobre 125 mg/dL. No use muestras hemolizadas.

No se encontraron interferencias significativas en niveles de hasta 25 mg/dL de bilirrubina.

No se encontraron interferencias significativas en niveles de hasta 1350 mg/dL de (uso de Intralipid\*).

\* Intralipid es una marca registrada de Pharmacia AB, Clayton, NC.

Young provee una lista de drogas y otras sustancias que interfieren con los análisis de química clínica.<sup>8,9</sup>

## REFERENCIAS

1. Ranson, J.H.C., *Curr.Prob.Surg.*, 16:1 (1979).
2. Salt, W.B. II and Schenker, S., *Medicine* 55:269 (1976).
3. Stefanini, P., Ermini, M., and Carboni, M., *J. Am. Surg.*, 110:866 (1965).
4. Chavez, R.G., et. al. U.S. Patent 4,963,479
5. Demetriou, J. et al., *Clinical Chemistry: Principles and Techniques*, 2<sup>nd</sup> Ed., Harper & Row (1974).
6. Tietz NW. *Textbook of Clinical Chemistry*, 2<sup>nd</sup> ed. WB Saunders and Co., Philadelphia, PA, p. 831-832 (1994).
7. Datos de los archivos de Medica.
8. Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2<sup>nd</sup> ed. Washington, DC. AACC Press, 1997.
9. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*. 4th ed. Washington, DC. AACC Press, 1995.

## Parámetros del ensayo (AMY) EasyRA

|  |            |
|--|------------|
| Longitud de onda (nm)                                | 405        |
| Tipo de reacción                                     | Enzima (0) |
| Dirección de la reacción                             | Aumento    |
| Blanco del reactivo                                  | No         |
| Blanco de la muestra                                 | No         |
| Variación máxima del primer intervalo de absorbancia | 0,11       |
| Tiempo de reacción                                   | 4 min.     |
| Intervalo de calibración (máximo)                    | N/A        |

## Suero

|                                    |  |
|------------------------------------|--|
| Volumen de la muestra (µl)         | 5,0                                      |
| Volumen del diluyente (µl)         | 0  |
| Volumen del reactivo (µl)          | 160                                      |
| Estabilidad integrada del reactivo | 30 días                                  |
| Puntos decimales (predeterminados) | 0  |
| Unidades (valores predeterminados) | U/L                                      |
| Factor de dilución                 | 1:1 (para extender el rango de medición) |
| Linealidad                         | 2 hasta 1200 U/L                         |
| Absortividad molar                 | 12,9                                     |

