



# Amilokit

Para la determinación de amilasa en suero u orina

## SIGNIFICACION CLINICA

La amilasa, producida en el páncreas exócrino y en las glándulas salivales, escinde los enlaces  $\alpha$  1-4 glucosídicos de los polisacáridos (almidón y glucógeno).

Se encuentra elevada en el suero de pacientes con pancreatitis aguda, alcanzando los valores más elevados entre las 24 y 30 horas posteriores al ataque, declinando luego para volver a los niveles normales entre las 24 y 48 horas siguientes.

También se ve aumentada en este caso la excreción urinaria de la enzima, persistiendo la hiperamilasuria 3 a 5 días, luego de que la actividad sérica ha alcanzado los niveles normales.

También es posible encontrar valores aumentados en cualquier caso de "abdomen agudo" o intervención quirúrgica en regiones próximas al páncreas.

Las parotiditis bacterianas y paperas se asocian también con elevaciones en los niveles de amilasa sérica.

## FUNDAMENTOS DEL METODO

El sustrato, almidón tamponado, se incuba con la muestra, produciéndose la hidrólisis enzimática. Esta se detiene por el agregado de reactivo de yodo, que al mismo tiempo produce color con el remanente de almidón no hidrolizado. La disminución de color respecto de un sustrato color (sin muestra) es la medida de la actividad enzimática, que se expresa en Unidades Amilolíticas (Smith & Roe) /decilitro (UA/dl), comparables con las Unidades Sacarogénicas (Somogyi)/decilitro.

## REACTIVOS PROVISTOS

**A. Reactivo A:** solución de almidón 500 mg/l, tamponada a pH 7 con buffer fosfatos 0,1 mol/l en ClNa 0,15 mol/l.

**B. Reactivo B:** solución 0,01 eq/l de yodo en ácido clorhídrico 0,02 mol/l.

## INSTRUCCIONES PARA SU USO

**Reactivos Provistos:** listos para usar.

Antes de utilizar el **Reactivo A**, agitarlo suavemente unos segundos para homogeneizar cualquier eventual depósito de almidón en el fondo del frasco.

## PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

## ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

**Reactivos Provistos:** estables a temperatura ambiente (<25°C), hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. Una vez abiertos, son estables un año en refrigerador (2-10°C).

## INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

La lectura del control (C) no debe sufrir variaciones mayores del 10%. Toda caída repentina de sus valores indicará contaminación del sustrato con saliva.

## MUESTRA

Suero u orina

**a) Recolección:** obtener suero de la manera usual.

Si la muestra a utilizar es orina, debe obtenerse de la siguiente forma: el paciente debe orinar descartando esta micción, 2 horas después vuelve a orinar y recoge toda la orina. Esta muestra, que corresponde a 2 horas de diuresis, se diluye a 200 ml con agua.

La determinación se efectúa con 20  $\mu$ l de esta dilución, obteniéndose el resultado directamente en Unidades Amilolíticas/hora.

Debido a las grandes variaciones de la diuresis en los cuadros agudos compatibles con diagnóstico de pancreatitis, la determinación de amilasuria sobre muestras simples de orina carece de valor por lo que debe determinarse la excreción horaria.

**b) Aditivos:** no se requieren.

**c) Sustancias interferentes conocidas:** los citratos y oxalatos inhiben la actividad enzimática.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

**d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** si la determinación no puede efectuarse de inmediato, la muestra puede conservarse hasta una semana en refrigerador (2-10°C) sin pérdida de actividad.

## MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro o fotocolorímetro.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Baño de agua a 37°C.
- Reloj o timer.

## CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 640 nm en espectrofotómetro o en fotocolorímetro con filtro rojo (610-660 nm).
- Temperatura de reacción: 37°C

- Tiempo de reacción: 7 minutos y 30 segundos
- Volumen de muestra: 20 ul
- Volumen final de la reacción: 10 ml

<b>PROCEDIMIENTO</b>		
En 2 tubos marcados C (Control) y D (Desconocido) colocar:		
	C	D
<b>Reactivo A</b>	1 ml	1 ml
Dejar unos minutos en baño de agua a 37°C y agregar:		
<b>Muestra</b>	-	20 ul
Incubar a 37°C. A los 7 minutos y medio exactos, agregar:		
<b>Reactivo B</b>	1 ml	1 ml
Mezclar por agitación suave. Retirar los tubos del baño y agregar:		
<b>Agua destilada</b>	8 ml	8 ml
Mezclar por inversión. Leer en fotocolorímetro con filtro rojo o en espectrofotómetro alrededor de 640 nm, llevando a cero el aparato con agua destilada.		

#### ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL

El color de la reacción es estable durante 1 hora por lo que la absorbancia debe ser leída dentro de ese lapso. Si la temperatura ambiente es superior a 25°C, la lectura deberá efectuarse dentro de los 20 minutos.

#### CALCULO DE LOS RESULTADOS

$$\text{Amilasa (UA/dl)} = \frac{C - D}{C} \times 1000$$

**Unidades:** una Unidad Amilolítica (UA) es la cantidad de enzima contenida en 100 ml de muestra, que puede hidrolizar 10 mg de almidón en 30 minutos, en las condiciones de la reacción. En esta técnica se incuban 20 ul de muestra con 0,5 mg de almidón contenidos en 1 ml de Sustrato 1 durante 7 minutos y medio, lo que equivale a incubar 100 ml de suero con 10.000 mg de almidón durante 30 minutos. Si todo el almidón fuera hidrolizado, la actividad amilásica de la muestra sería de 1000 UA/dl. Para obtener las unidades de actividad amilásica, la fracción de almidón digerido se multiplica por 1000.

#### VALORES DE REFERENCIA

Condición clínica	Suero (UA/dl)	Orina (UA/hora)
Normal	< 120	< 260
Pancreatitis aguda	300 a 12.000	más de 900
Pancreatitis crónica	hasta 200	más de 300
Parotiditis	200 a 350	350 a 750
Parotiditis c/ complicación pancreática	más de 350	más de 750
Procesos abdominales agudos (sin pancreatitis)	normal	normal

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

#### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Como la actividad amilásica de la saliva es 700 veces mayor que la del suero, deben evitarse contaminaciones con aquella. El sustrato debe medirse con pipeta de 5 ml o bien de 1 ml de doble aforo. No debe soplar por la pipeta, la mínima contaminación con saliva deteriora definitivamente el sustrato.

El color de la reacción de **Amilokit** no es azul debido a un exceso de yodo que, con el CIH del Reactivo B, son necesarios para asegurar la completa inhibición de la reacción enzimática, la estabilidad del color y para eliminar la influencia de las proteínas en la reacción de color.

#### PERFORMANCE

**a) Reproducibilidad:** procesando replicados de las mismas muestras en un mismo día se obtuvieron los siguientes resultados:

	Nivel	D.S.	C.V.
<b>Suero</b>	85 UA/dl	± 1,1 UA/dl	1,2 %
	240 UA/dl	± 2,5 UA/dl	1,1 %
<b>Orina</b>	160 UA/dl	± 0,9 UA/dl	0,6 %
	930 UA/dl	± 3,2 UA/dl	0,3 %

**b) Rango dinámico:** cuando la actividad amilasa es superior a 600 UA/dl debe repetirse el ensayo diluyendo la muestra 1/10 con agua destilada o solución fisiológica.

**c) Límite de detección:** depende del fotómetro empleado. En espectrofotómetro a 640 nm con cubetas de caras paralelas de 1 cm de espesor, para un ΔA/min de 0,001 D.O. el mínimo cambio de actividad detectable será de 2 UA/dl.

#### PRESENTACION

- 25-40 determinaciones (Cód. 1021001).

#### BIBLIOGRAFIA

- Huggins, C. & Russell, P.S. - Ann. Surg. 128:668 (1948).
- Sachar, L.E. - Am. J. Clin. Path. 22:117 (1952).
- Smith, B.W. & Roe, J.H. - J. Biol. Chem. 179:53 (1949).
- Van Loon, E.J.; Likins, M.R. & Seger, A.J. - Am. J. Clin. Path. 22:1134 (1952).
- Tietz, N. - Fundamentals of Clinical Chemistry - W.B. Saunders Co - (1970).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4<sup>th</sup> ed., 2001.

# Símbolos

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.

	Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"		Elaborado por:
	Representante autorizado en la Comunidad Europea		Nocivo
	Uso diagnóstico "in vitro"		Corrosivo / Cáustico
	Contenido suficiente para <n> ensayos		Irritante
	Fecha de caducidad		Consultar instrucciones de uso
	Límite de temperatura (conservar a)		Calibrador
	No congelar		Control
	Riesgo biológico		Control Positivo
	Volumen después de la reconstitución		Control Negativo
	Contenido		Número de catálogo
	Número de lote		

Wiener Laboratorios S.A.I.C.  
 Riobamba 2944  
 2000 - Rosario - Argentina  
<http://www.wiener-lab.com.ar>  
 Dir. Téc.: Viviana E. Cétola  
 Bioquímica  
 Producto Autorizado A.N.M.A.T.  
 Disp. N°: 252/75 - 209/00

 **Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina