

	MANUAL DE NORMAS Y PROCEDIMIENTOS	PAG. No:
	SERVICIO DE LABORATORIO (QUIMICAS)	1 DE 3
	PROCEDIMIENTO: CONTROL DE LA AMILASA	CODIGO

1. GENERALIDAD

La amilasa es una enzima que cataliza la división de 1,4 – alfa-glicósido en el interior de la molécula de los polisacáridos de los vegetales y animales, provocando la despolimerización del almidón a dextrina, y del glicógeno, a azúcar sencillo (glucosa).

La amilasa se produce en el páncreas y las glándulas salivales, y en pequeña concentración, en el hígado, el riñón y las trompas de Falopio, y es eliminada por el riñón. Se puede distinguir amilasa pancreática (isoamilasa P) y amilasa extrapancreática (isoamilasa S).

2. INDICACIONES

La determinación de la amilasa es de importancia fundamental en el diagnóstico de las enfermedades pancreáticas. La amilasa es útil en el diagnóstico para el control de la pancreatitis aguda. En estas enfermedades, la amilasa sérica sube en casi la totalidad de los pacientes, 5-6 horas después de la sintomatología clínica. Puede añadir valores de 10-30 veces mayor de los valores normales. Parece que la amilasa sube más en correlación con el edema, en vez que en relación con la necrosis pancreática.

La amilasa puede aumentar también en otras enfermedades pancreáticas: neoplasia del páncreas, neoplasia de la papila de Váter.

3. PREPARACIÓN DEL PACIENTE

Ayuno en rutina.

4. RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

El suero no hemolizado es el espécimen de elección. Plasma en tubos con heparina pueden ser utilizados, otros anticoagulantes como citrato y EDTA, y los iones de calcio son necesarios para la actividad de la amilasa.

Las muestras de orina deben ser ajustadas a un pH de 7.0 y deben mantenerse refrigeradas hasta que se monte su prueba.

5. ESTABILIDAD DE LA MUESTRA

La amilasa en suero y orina es reportada estable por una semana a T⁰ ambiente y por varios meses cuando se mantiene en refrigeración y se protege de la evaporación y de la contaminación bacteriana.

6. MÉTODO ENZIMÁTICO

Usa como sustrato PNPG7 (P-Nitrofenil-D-maltohepataosida) con el bloqueo de la glucosa terminal para reducir la degradación espontánea de el sustrato por glucosidasa y glicoamilasa.

	MANUAL DE NORMAS Y PROCEDIMIENTOS	PAG. No:
	SERVICIO DE LABORATORIO (QUIMICAS)	2 DE 3
	PROCEDIMIENTO: CONTROL DE LA AMILASA	CODIGO

La amilasa hidroliza el P-Nitrofenil D- maltohepatoosida a P- Nitrofenil-maltotriosa y maltotetraosa . La glucoamilasa hidroliza la PNPG3 a P-Nitrofenilglicosida y glucosa. Posteriormente la PNPG1 es hidrolizada por la glucosidasa a glucosa y P-Nitrofenol. El cual produce un color amarillo. El rango de incremento en absorbancia se mide a 405 nm y es proporcional a la actividad de la amilasa en la muestra.

7. MATERIALES

- Guantes descartables no estériles.
- Tubos de hemolisis.
- Puntas de pipeta de 10 – 50 ul.
- Marcador de vidrio.
- Gradillas.

8. EQUIPOS

- Centrífuga.
- Espectrofotómetro Estar fax.
- Baño María.
- Reloj cronometro.
- Pipetas automáticas 25 ul.
- Dispensador automático con su respectiva jeringa.

9. PROCEDIMIENTO

- a) Para cada muestra añadir 1 ml. Del reactivo reconstituido en una celdilla o tubo de hemolisis, calentar a 37 °C por 4 minutos.
- b) Añadir 0.025 ml. De suero al tubo respectivo, mezclar y leer directamente en el Estar Fax previamente programado usando factor indicado por fabricante a 405 nm con agua destilada como blanco. Obteniéndose el resultado en U/L.

10. CONTROL DE CALIDAD

Se usan sueros, control normal y patológico, en las mismas condiciones que las muestras.

11. VERIFICAR EL RESULTADO

- Si el valor de la amilasa en $\geq 1000-2000$ U/l, repetir la determinación.
- Si el valor del resultado repetido es el mismo, se puede entregar.
- Si el valor del resultado repetido es diferente, procesar nuevamente la muestra utilizando un control patológico.
- Con valores de amilasa \geq de 1500 U/l, repetir realizando dilución 1:2 con solución fisiológica y con un control patológico.
- Si está dentro los rangos establecidos, se puede entregar el resultado.
- Si el suero diluido no está en relación con el suero concentrado, diluir la muestra 1:4, 1:8, 1:16 con solución fisiológica, siempre usando el control patológico.

	MANUAL DE NORMAS Y PROCEDIMIENTOS	PAG. No:
	SERVICIO DE LABORATORIO (QUIMICAS)	3 DE 3
	PROCEDIMIENTO: CONTROL DE LA AMILASA	CODIGO

12. NOTAS SOBRE EL MÉTODO

- La metódica es lineal hasta 2000 U/l.
- Tiene una sensibilidad de 1.2 U/l.
- Es específica para la amilasa total y para todas las isoamilasas (P, S).

13. SUSTANCIAS INTERFERENTES

- Hemólisis, Ictericia - bilirrubina ≥ 20.0 mg/dl.
- El citrato y el fluoruro y ácido ascórbico inhiben la reacción.

14. VALORES DE REFERENCIA

- Suero 25 – 125 U/L (37°C).
- Orina 1 – 17 U/ Hora (37°C).

15. COMUNICACIÓN DE RIESGO

Se tiene que comunicar inmediatamente, con valores ≥ 800.0 U/l.