

UPOTREBA

Reagens se koristi za određivanje aktivnosti enzima α -amilaze u serumu ili urinu.

METODA

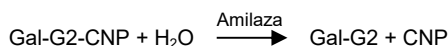
Kinetički, kolorimetrijski metod.

KLINIČKI ZNAČAJ

U normalnim fiziološkim uslovima postoji nizak, ali merljiv nivo aktivnosti serumske α -amilaze i α -amilaze u urinu, koja se proizvodi u pankreasu i parotidnim žlezdama. Merenje aktivnosti enzima α -amilaze značajno je za dijagnostikovanje pankreatitisa i drugih oboljenja pankreasa koja dovode do promene aktivnosti α -amilaze u serumu i urinu.

PRINCIP ODREĐIVANJA

Enzim α -amilaza direktno katalizuje reakciju hidrolize supstrata Gal-G2-CNP α -(2-hloro-4-nitrofenil)- β -1,4-galaktopiranozilmaltozida. Brzina formiranja CNP (2-hloro-4-nitrofenola) direktno je proporcionalna aktivnosti α -amilaze ^{1,2}:



REAGENSI

Amilaza, Ref: AMI-101 se sastoji od 2 reagensa:

Reagens 1 (Rg.1) 2 x 50 mL

Amilaza, Ref: AMI-201 se sastoji od 2 reagensa:

Reagens 1 (Rg.1) 2 x 100 mL

SASTAV REAGENSA

Rg.1 MES, pH=6.0	50 mmol/L
NaCl	150 mmol/L
KSCN	150 mmol/L
CaCl ₂	5 mmol/L
GalG2CNP	5 mmol/L
Stabilizatori	

UPOZORENJE

1. Koristiti isključivo za dijagnostiku *in vitro*.
2. Voditi računa o propisanoj eliminaciji otpada. Ako se odbacuje u kanalizaciju, isprati velikom količinom vode.
3. Da bi se izbegla kontaminacija koristiti čist pribor ili laboratorijsku opremu za jednokratnu upotrebu.

PRIPREMA REAGENSA

Reagens je spreman za upotrebu.

STABILNOST REAGENSA

Reagens u originalnom pakovanju je stabilan do isteka roka označenog na bočici, ako se čuva na propisanoj temperaturi i zaštićen od svetlosti.

Ukoliko je vrednost inicijalne apsorpcije reagensa (merena prema vodi) veća od 0,900 A reagens nije za upotrebu.

UZORCI

Serum; plazma pripremljena sa heparinom; urin razblažen tri puta fiziološkim rastvorom.

Stabilnost u serumu: 2 meseca na 20-25 °C
5 meseci na 4-8 °C
6 meseci na -20 °C.

DODATNI POTREBNI MATERIJALI

Opšta laboratorijska oprema i rastvori

- Multikalibrator	Ref: KLB-012	4x3 mL
- Kontrolni serum N	Ref: KSN-020	4x5 mL
- Kontrolni serum P	Ref: KSP-020	4x5 mL

ANALITIČKA PROCEDURA

Analički parametri testa:

Talasna dužina : 1°/2°	405/660 nm
Kiveta :	1 cm
Temperatura :	37° C
Odnos : uzorak / reagens	1 / 50
Reakcija :	Kinetička
Inicijalna A reagensa :	< 0.9 Abs

Pipetirati u epruvete :

	Serum/Urin
Uzorak	20 µL
Rg.1	1000 µL

Promešati reakcionu smešu i inkubirati 1 minut na 37°C, izmeriti apsorpciju (A_0), a zatim meriti promene apsorpcije svakog minuta u toku 3 minuta (A_1, A_2, A_3) na 405 nm.

KALIBRACIJA

Za kalibraciju koristiti multikalibrator

Tip kalibracione krive : Linearan

Rekalibraciju vršiti :

- nakon promene serije reagensa
- ukoliko su dobijene vrednosti kontrola izvan prihvatljivog opsega

KONTROLA KVALITETA

Za kontrolu kvaliteta preporučuje se korišćenje kontrolnih seruma.

IZRAČUNAVANJE

$$\Delta A_1 = A_1 - A_0 \quad \Delta A_2 = A_2 - A_1 \quad \Delta A_3 = A_3 - A_2$$

$$\Delta A = (\Delta A_1 + \Delta A_2 + \Delta A_3) / 3$$

$$C = \Delta A * 3500 \text{ (U/L)}$$

Navedena je teorijska vrednost faktora za izračunavanje. Preporuka je da se reagens kalibriše odgovarajućim kalibratorom.

REFERENTNE VREDNOSTI

Serum	< 125 U/L
Urin 24-časovni	< 570 U/L

Na referentne vrednosti utiče (pored drugih faktora) starosna struktura i etnički sastav populacije. Zato se preporučuje da svaka laboratorija odredi sopstvene referentne vrednosti.

ANALITIČKE KARAKTERISTIKE TESTA

Parametri validacije su izračunati na osnovu rezultata ispitivanja na analizatorima Roche 902 i Abbott –Alcion.

Opseg merenja

Od 5 do 1500 U/L α-amilaze.

Ukoliko je aktivnost amilaze veća od 1500 U/L razblažiti uzorak (1+ 4) sa fiziološkim rastvorom i rezultat pomnožiti sa 5.

Limit detekcije (LOD) i limit kvantifikacije (LOQ)

LoD = 1,9 U/L

LoQ = 5,0 U/L

Osetljivost određivanja (S)

$S = A/c = 0,25 \Delta mAbs$ po U/L

Interferencije

Na određivanje α-amilaze ne utiču sledeći parametri:

bilirubin	c < 1000 μmol/L (58,5 mg/dL)
hemoglobin	c < 6,0 g/L
trigliceridi	c < 22,6 mmol/L (2000 mg/dL).

Za primenu testa na uzorcima urina :

askorbat	c < 2,2 mg/mL
glukoza	c < 12,0 mg/mL
oksalat	c < 0,7 mg/mL
proteini	c < 0,6 mg/mL.

Preciznost određivanja

Reproducibilnost unutar serije

Uzorak 1	Xsr = 75,14	Sd = 2,18	KV = 2,90 %
Uzorak 2	Xsr = 184,93	Sd = 3,075	KV = 1,66 %

Reproducibilnost između serija

Uzorak 1	Xsr = 74,93	Sd = 2,645	KV = 3,53 %
Uzorak 2	Xsr = 184,29	Sd = 4,462	KV = 2,42 %

Korelacija

Urađena je komparativna analiza³ između metode firme BIOANALYTICA i komercijalnog testa druge firme na 45 uzorka humanog seruma. Dobijeni su sledeći parametri :

Linearna regresija

$y = 1,0026 x - 0,3497$

$r = 0,9998$

LITERATURA

1. E.Rauscher, α-Amylase, Colorimetric Methods, in: Bergmeyer Methods of Enzymatic Analysis, Third Ed., Vol. IV Verlag Chemie, 157-161, 1984.
2. N.W. Tietz, Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1986.
3. H. Passing, W.A. Bablok, A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part I. J Clin Chem and Clin Biochem 21(11), 709-720, 1983.



Bioanalytica d.o.o.
Agostina Neta 84/2, Beograd,
Srbija
www.bioanalytica.rs



Bioscience Medical SL
Velazquez 126, 7AB,
Madrid, Spain



Broj rešenja o upisu : _____