

UPOTREBA

Reagens se koristi za određivanje koncentracije bakra u serumu.

METODA

Spektrofotometrijski metod. Određivanje bakra u serumu se izvodi bez slepe probe uzorka i bez deproteinizacije.

KLINIČKI ZNAČAJ

Bakar se u organizmu nalazi kao konstituent metaloenzima, a značajan je za funkciju ceruloplazmina i za sintezu kolagena i melanina.

PRINCIP ODREĐIVANJA

U prisustvu tenzida, u kiseloj sredini, dolazi do oslobađanja bakra(II) vezanog za protein ceruloplazmin i građenja stabilnog kompleksnog jedinjenja bakra(II) sa "Di-Br-PAESA" kompleksirajućim reagensom. Intenzitet boje nagrađenog kompleksnog jedinjenja direktno je proporcionalan koncentraciji bakra u serumu ¹⁻³.

REAGENSI

Bakar, Ref: BAK-120 se sastoji od 3 reagensa i 1 standarda:

Rg.1 (Kolor reagens)	1 x 100 mL
Rg.2 (Reagens za redukciju)	2 g
Rg.3 (Reagens za izvođenje Sp uzorka)	1 x 20 mL
Standard bakra	1x 3 mL

SASTAV REAGENASA**Rg.1 Kolor reagens**

Acetatni pufer pH 5,0	0,2 mol/L
"Di-Br-PAESA"-hromogen	0,02 mmol/L
Akcelerator	1,5 %
Stabilizatori	

Rg.2 Reagens za redukciju

Askorbinska kiselina	25 mmol/L
----------------------	-----------

Rg.3 Reagens za izvođenje slepe probe uzorka

Acetatni pufer pH 5,0	0,2 mol/L
Akcelerator	1,5 %

Standard bakra	25 µmol /L
----------------	------------

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

U 10 mL Kolor reagensa (Rg.1) dodati jednu mericu (priloženu u testu) Reagensa za redukciju (Rg.2) i kružno mešati do rastvaranja.

STABILNOST REAGENSA

Reagens čuvati na temperaturi od 20 - 25°C. Ukoliko dođe do taloženja komponenata reagensa (ukoliko je $t < 20^{\circ}\text{C}$), reagens blago zagrejati (do 37°C), uz kružno mešanje rastvora, do potpunog rastvaranja taloga. Pripremljen radni reagens je stabilan 5 dana na sobnoj temperaturi.

UZORCI

Kao uzorak koristiti nehemolizovan serum.

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

Analitički parametri testa:

Talasna dužina : $1^{\circ}/2^{\circ}$	580 nm
Kiveta :	1 cm
Temperatura :	30, 37° C
Odnos : uzorak / reagens	1 / 15
Reakcija :	End Point
Inicijalna A reagensa :	< 1.0 Abs

Pipetirati u epruvete :

	Auz	Ast	Aspr
Uzorak	100µL	-	-
Standard	-	100µL	-
Destilovana voda	-	-	100µL
Radni reagens	1,5mL	1,5mL	1,5mL

Otpipetirati uzorke, standard i reagens prema priloženoj šemi, energično promešati (sve dok se reakciona smeša ne izbistri), inkubirati 5-10 minuta na temperaturi 30, 37°C, a zatim izmeriti apsorbcije uzorka (Auz) i standarda (Ast) prema slepoj probi reagensa (Aspr) na $\lambda = 580$ nm. Merenja apsorbcija izvršiti u toku 30 minuta.

KALIBRACIJA

Za kalibraciju koristiti standard bakra ili 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

$$c = \frac{A_{uz}}{A_{st}} \cdot c_{ST} \text{ (}\mu\text{mol/L)}$$

REFERENTNE VREDNOSTI

Bakar : 11 - 26 µmol/L

NAPOMENA

Ukoliko je uzorak jako lipemičan ili hemolitičan, uraditi slepu probu uzorka koristeći Rg.4, tj. otpipetirati u epruvetu 100 µL uzorka i 1,5 mL Rg.4, promešati rastvor i posle 5-10 minuta izmeriti apsorbciju slepe probe uzorka na 580 nm (Aspu), prema reagensu za izvođenje slepe probe uzorka (Rg.4). Nepoznata koncentracija bakra se izračunava na osnovu izraza:

$$c = \frac{A_{uz} - A_{spu}}{A_{st}} \cdot c_{ST} (\mu\text{mol/L})$$

ANALITIČKE KARAKTERISTIKE TESTA

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

Opseg merenja

Od 2 do 60 $\mu\text{mol/L}$ bakra.

Limit detekcije (LOD) i limit kvantifikacije (LOQ)

LoD = 0,7 $\mu\text{mol/L}$

LoQ = 2 $\mu\text{mol/L}$

Osetljivost određivanja (S)

$S = A/c = 5,14 \Delta\text{mAbs}$ po $\mu\text{mol/L}$

Interferencije

Na određivanje bakra ne utiču sledeći parametri:

bilirubin u koncentraciji (c) < 15 mg/dL

hemoglobin u c < 100 mg/L i

trigliceridi u c < 2 g/L.

Tačnost određivanja

Za određivanje tačnosti korišćen je kalibrator čija vrednost iznosi 25 $\mu\text{mol/L}$ bakra(II), pri čemu su dobijene sledeće statističke vrednosti:

$X_{sr} = 24,94$ $S_d = 0,74$ $KV = 2,97 \%$

Preciznost određivanja

Reproducibilnost unutar serije

Normalan serum	$X_{sr} = 22,22$	$S_d = 0,77$	$KV = 3,46\%$
----------------	------------------	--------------	---------------

Patološki serum	$X_{sr} = 39,21$	$S_d = 0,88$	$KV = 2,23\%$
-----------------	------------------	--------------	---------------

Reproducibilnost između serija

Normalan serum	$X_{sr} = 22,16$	$S_d = 0,82$	$KV = 3,68\%$
----------------	------------------	--------------	---------------

Patološki serum	$X_{sr} = 39,28$	$S_d = 1,00$	$KV = 2,54\%$
-----------------	------------------	--------------	---------------

Korelacija

Urađena je komparativna analiza^{4,5} između metode firme BIOANALYTICA i komercijalnog testa druge firme na 50 uzoraka humanog seruma. Dobijeni su sledeći parametri linearne regresione analize:

$r = 0,9964$

$y = 1,0037 x + 0,0465$

LITERATURA

1. Abe A. Yamashita S. and A. Noma, Sensitive, Direct Colorimetric Assay for Copper in Serum. Clin. Chem., 35, 552, 1989.
2. B. Štraus, Medicinska biokemija, Medicinska naklada Zagreb, 1992.
3. N.W. Tietz, Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1986.
4. 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.
5. W. Bablok H. Passing, R. Bender, B. Schneider. A general regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem and Clin Biochem 26 (11), 783 - 790, 1988.



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 : _____