

UPOTREBA

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

METODA

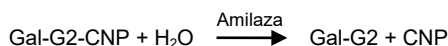
Kinetički, kolorimetrijski metod.

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}:

**REAGENS**

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	450 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 apsorbcije 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: 7 dana na 20-25 °C

1 mesec na 4-8 °C

6 meseci na -20 °C.

Stabilnost u urinu: 2 dana na 20-25 °C

10 dana na 4-8 °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

Analitički 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 :	< 0.5 Abs

Pipetirati u epruvete :

	Serum/Urin
Uzorak	20 μ L
Rg.1	1000 μ L

Promešati reakcionu smešu i inkubirati 1 minut na 37°C, izmeriti inicijalnu apsorbciju (A_0), a zatim meriti promene apsorbcije 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

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

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

$$C = \Delta A * 3000 \text{ (U/L)}$$

REFERENTNE VREDNOSTI

Serum	< 125 U/L
24-časovni urin	< 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 μ mol/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 : _____