

Saure Phosphatase-Reagenz

Alpha-Naphthylphosphat-Methode

KURZBESCHREIBUNG DES PRODUKTS

Stabilität	: 5 Tage bei 2-8°C
Linearer Bereich	: bis zu 80 U/L
Probe Typ	: Serum
Methode	: Kinetische
Reagenz-Vorbereitung	: Hinzufügen der angegebenen Menge destillierten oder deionisierten Wassers

VERWENDUNGSZWECK

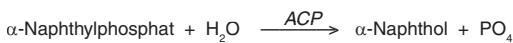
Dieses Reagenz dient der quantitativen in-vitro-Bestimmung von Saurer Gesamt- und Prostata-Phosphatase in menschlichem Serum auf manuellen und automatisierten Systemen.

KLINISCHE BEDEUTUNG

Hohe Saure Phosphatasewerte treten in der Milz, den Erythrozyten, Blutplättchen, sowie in der Prostata auf. Eine Erhöhung des prostatatischen Anteils saurer Phosphatase ist das Ergebnis eines Prostatakarzinoms sowie operativer Traumata. Erhöhte Werte der sauren Gesamtphosphatase treten bei einer Reihe von Leber- und Knochenkrankungen, Morbus Gaucher, sowie übermäßiger Zerstörung von Blutplättchen auf.¹

METHODE

Saure Phosphatase (ACP) katalysiert die Hydrolyse von Alpha-Naphthylphosphat, wodurch Alpha-Naphthol und Phosphat freigesetzt werden. Das Alpha-Naphthol wird dann mit diazotiertem 4-Chlor-2-Methylbenzol (Fast Red TR) verbunden, so dass ein Diazofarbstoff entsteht, der ein starkes Absorptionsvermögen bei 405nm aufweist; die Erhöhung der Absorption ist direkt proportional zum sauren Phosphatasewert in der Probe. Das Hinzufügen von L-Tartrat hemmt saure Prostataphosphatase, jedoch nicht andere Isoenzyme. Der Unterschied zwischen den beiden Tests (saure Gesamtphosphatase und saure Nichtprostata-Phosphatase) wäre der Wert der sauren Prostataphosphatase in Serum.²



REAGENZZUSAMMENSETZUNG

Aktive Bestandteile

Reagenz A:	Konzentration
α-Naphthylphosphat	3 mmol/L
Fast Red TR	1 mmol/L
Zitronensäure	20 mmol/L
Natriumcitrat	60 mmol/L
pH 5,3 bei 20°C	
Reagenz B:	
Natrium L-Tartrat	2 mol/L
Reagenz C:	
Acetatpuffer	3 mol/L

WARNUNG: Nicht Einnehmen! Kontakt mit Augen und Haut vermeiden! Im Falle des Verschüttens die betroffenen Flächen gründlich mit Wasser waschen. Wir empfehlen, nach dem Weggießen mit viel Wasser nachzuspülen. Für zusätzliche Informationen konsultieren Sie bitte das Material- und Sicherheitsdatenblatt mit dem Titel "Saure Phosphatase-Reagenz". Die Verpackung dieses Produkts enthält trockenen Naturkautschuk. Vorsicht beim Umgang mit Falzungen und zerbrochenen Glassphiolen, da scharfe Kanten zu Verletzungen führen können.

Reagenz A:

R41 Gefahr ernster Augenschäden.
S26 Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren.

REAGENZVORBEREITUNG

Reagenz A:

Das Reagenz ist mit der auf dem Schild angegebenen Menge von destilliertem oder deionisiertem Wasser zu rekonstituieren. Bis zur Auflösung behutsam schütteln.

Reagenz B:

Das Reagenz ist mit der auf dem Schild angegebenen Menge von destilliertem oder deionisiertem Wasser zu rekonstituieren. Bis zur Auflösung behutsam schütteln.

Reagenz C:

Die stabilisierende Lösung wird gebrauchsfertig geliefert.

SYMBOLE PRODUKTBEZEICHNUNG

	Autorisierter Vertreter		Temperaturbeschränkung
	Für in vitro Diagnostik		Verfallsdatum
	Batch Code / Losnummer		VORSICHT: Siehe Benutzungsanweisungen
	Katalognummer		Hergestellt von
	Siehe Benutzungsanweisungen		Xi - Reizend
	Reagenz A		Reagenz C
	Reagenz B		

STABILITÄT UND LAGERUNG

- Alle Reagenzien sollten gekühlt (2-8°C) gelagert werden und können bis zum auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum verwendet werden.
- Das rekonstituierte Reagenz A ist gekühlt (2-8°C) für 5 Tage stabil, wenn es in einer dunklen Phiole und vor direktem Licht geschützt aufbewahrt wird.
- Das rekonstituierte Reagenz B ist bei gekühlter Lagerung (2-8°C) für 90 Tage stabil. Die Lösung kann auf 45-55°C aufgewärmt werden, falls sie während der Lagerung kristallisiert.

Indikationen einer Verschlechterung des Reagenz:

- Trübung,
- Kontrollwerte liegen außerhalb des erlaubten Bereichs und/oder;
- Absorptionsvermögen von Reagenz A >0,3 AU bei 405nm (1 cm Lichtweg).

PROBENSAMMLUNG UND HANDHABUNG

Serum: Nicht hämolysiertes Serum verwenden.

Plasma: Nicht empfohlen. Oxalate und Fluor-Verdüner beeinträchtigen den Test.

Lagerung: Saure Phosphatase ist beim PH-Wert von Serum sehr instabil.³ Das Stabilisieren der Probe erfolgt durch das Hinzufügen von 0,020mL Stabilisator (Reagenz C) pro 1mL Serum. Die Enzymaktivität bleibt bei 2-8°C für drei Tage stabil.

ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT GELIEFERTER AUSRÜSTUNG

- Klinisches Chemie-Messgerät, das eine konstante Temperatur (37°C) sowie ein Mess-Absorptionsvermögen von 405 nm beibehalten kann.
- Gerätespezifische Materialien, z.B. Probebehälter, usw.
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser für die Aufbereitung des Reagenz und entsprechende Hilfsgeräte (z.B. Pipette).
- Bereits gemessenes, normales und abnormales Kontrollmaterial.

TESTVERFAHREN (ASSAY VERFAHREN/PROZEDUR)

Die folgenden Testparameter werden empfohlen: Einzelne Anwendungen des Instruments können auf Anfrage von der Technischen Unterstützungsgruppe erhalten werden.

TEST PARAMETER

Saure Gesamtphosphatase

Temperatur	30°/37°C
Wellenlänge	405 nm (405-420 nm)
Sekundäre Wellenlänge	500 - 650 nm
Testtyp	Geschwindigkeit/Kinetisch
Richtung	Erhöhung
Probe : Reagenz-Verhältnis	1 : 10
z.B.: Probe Volumen	0,2 mL
Reagenz Volumen	2,0 mL
Verzögerung/Lag	5 Minuten
Ablesezeit	10 Minuten
Reagenz-Blindgrenzen	niedrig 0,0 AU
(405nm, 1cm Lichtweg)	hoch 0,3 AU
Linearität	0-80 U/L
(siehe Abschnitt Linearität)	
Sensitivität	1,2 ΔmA/min pro U/L
(405nm, 1cm Lichtweg)	

Saure Nichtprostata-Phosphatase

Temperatur	30°/37°C
Wellenlänge	405 nm (405-420 nm)
Sekundäre Wellenlänge	500 - 650nm
Testtyp	Geschwindigkeit/Kinetisch
Richtung	Erhöhung
Probe : Reagenz-Verhältnis	1 : 10,1
z.B.: Probe Volumen	0,2 mL
Reagenz A Volumen	2,0 mL
Reagenz B Volumen	0,02 mL
Verzögerung/Lag	5 Minuten
Ablesezeit	10 Minuten

Reagenz-Blindgrenzen (405nm, 1cm Lichtweg)	niedrig 0,0 AU hoch 0,3 AU
Linearität (siehe Abschnitt Linearität)	0-80 U/L
Sensitivität (405nm, 1cm Lichtweg)	1,2 ΔmA/min pro U/L

BERECHNUNGEN

Die Ergebnisse werden, gewöhnlich vom Instrument automatisch, wie folgt berechnet:

Aktivität in U/L = ΔAbs/min x Faktor

$$\text{Faktor} = \frac{\text{TV} \times 1000}{\text{SV} \times E \times P}$$

Wobei	TV	=	Gesamtreaktionsmenge in mL
	SV	=	Probenmenge in mL
	E	=	millimolarer Extinktionskoeffizient von Diazofarbstoff bei 405 nm = 12,9
	P	=	Weglänge Küvette in cm.

Beispiel:

- Saure Gesamphosphatase (T-ACP):
 $\Delta\text{Abs}/\text{min} = 0,017$
 Faktor = 853
 Saure Phos = $0,017 \times 853 = 14,5 \text{ U/L}$
- Saure Nichtprostata-Phosphatase (N-ACP):
 $\Delta\text{Abs}/\text{min} = 0,010$
 Faktor = 860
 Saure Phos = $0,010 \times 860 = 8,6 \text{ U/L}$
- Die Saure Prostata-Phosphatase wird errechnet, indem die Ergebnisse der Sauren Nichtprostata-Phosphatasetests von der Ergebnissen der Sauren Gesamphosphatase derselben Probe subtrahiert werden.
 Prostatistische ACP (U/L) = T-ACP (U/L) - N-ACP (U/L)
 Prostatistische ACP (U/L) = $14,5 - 8,6 = 5,9 \text{ U/L}$

ANMERKUNGEN

- Die Reagenz- und Probenmengen können proportional geändert werden, um sie verschiedenen Photospektrometern anzupassen.
- Falls das Absorptionsvermögen sich um mehr als 0,1A/min verändert, wiederholen Sie den Test mit einer kleineren Probe bzw. verdünnen Sie mit Salzlösung. Denken Sie daran, den Faktor für die kleinere Menge zu verändern bzw. das Endresultat mit dem Verdünnungsfaktor zu multiplizieren.
- Gültige Resultate hängen vom genau kalibrierten Instrument, sowie akkurater Zeitnahme und Temperaturkontrolle ab.
- Einheitsumrechnung: $\text{U/L} \times 16,67 \times 10^{-3} = \mu\text{kat/L}$

KALIBRIERUNG

Nicht erforderlich. Der Reaktionsgrad wird mittels Berechnungsfaktor zu U/L -Aktivität umgerechnet. Siehe Abschnitt über Berechnungen dieser Packungsbeilage.

QUALITÄTSKONTROLLE

Um eine angemessene Qualitätskontrolle sicherzustellen, sollten bekannte (gemessene) normale und abnormale Proben zusammen mit den unbekannt Proben getestet werden:

- Mindestens alle acht Stunden.
 - Beim Gebrauch einer neuen Reagenzflasche.
 - Nach Wartung oder nach dem Austausch einer wichtigen Komponente.
- Kontrollresultate, die außerhalb der niedrigen oder hohen Grenzwerte des normalen Bereichs fallen, deuten darauf hin, dass der Test ungültig ist. Für solche Situationen empfehlen wir die folgenden korrektiven Maßnahmen:

- Wiederholen Sie dieselben Kontrollen.
- Falls die erneuten Kontrollwerte außerhalb der Grenzwerte liegen, bereiten Sie frisches Kontrollserum vor und wiederholen Sie den Test.
- Falls die Resultate frischen Kontrollmaterials immer noch außerhalb der Grenzwerte liegen, wiederholen Sie den Test mit frischem Reagenz.
- Falls die Resultate immer noch außerhalb der normalen Werte liegen, wenden Sie sich an den Technischen Kundendienst oder Ihren lokalen Händler.

BESCHRÄNKUNGEN

- Die Verwendung hämolysierter Proben sollte vermieden werden.
- Es wurden Studien zur Bestimmung der Interferenz von Bilirubin auf einem automatischen klinischen Chemieanalysegerät durchgeführt. Es entstanden die folgenden Ergebnisse:
Bilirubin: Keine Interferenz von Bilirubin bis zu $68 \mu\text{mol/L}$ (4 mg/dL).
- Die Benutzung von lipämischen Proben ist zu vermeiden.
- Young DS¹ hat eine umfassende Liste von Medikamenten und Substanzen veröffentlicht, die diesen Test beeinträchtigen könnten.

ERWARTETE WERTE^{1,5}

Saure Gesamphosphatase

Bei 37°C 0 - 6,0 U/L (0,0 - 0,10 μkat/L)
 Bei 30°C 0 - 4,5 U/L (0,0 - 0,075 μkat/L)

Saure Nichtprostata-Phosphatase

Bei 37°C 0 - 2,0 U/L (0,0 - 0,03 μkat/L)
 Bei 30°C 0 - 1,5 U/L (0,0 - 0,025 μkat/L)

Die angegebenen Werte sind stellvertretend für den erwarteten Wertebereich bei dieser Methode und sollten nur als Richtlinie gelten. Es wird empfohlen, dass jedes Labor diesen Bereich verifiziert oder für die von ihm betreute Bevölkerungsgruppe ein Referenzintervall ableitet.⁶

LEISTUNGSDATEN

Die folgenden Daten wurden mithilfe des Saure Phosphatase-Reagenz auf einem sich in gutem Zustand befindlichen automatischen klinischen Analysegerät erhalten. Benutzer sollten die Produktleistung für ihr spezifisches Analysegerät festlegen.

UNGENAUIGKEIT

Innerhalb Lauf	Stufe I	Stufe II
Anzahl der Datenpunkte	20	20
Durchschnitt (U/L)	2,9	24,5
SD	0,24	0,95
CV%	8,3	3,9

Zwischen Tagen	Stufe I	Stufe II
Anzahl der Datenpunkte	20	20
Durchschnitt (U/L)	3,0	27,7
SD	0,48	0,73
CV%	16,0	2,6

EXAKTHEIT (GENAUIGKEIT)

Es wurden mit einem ähnlichen, im Handel erhältlichen Saure Phosphatase-Reagenz Vergleichsstudien durchgeführt. Serumproben wurden parallel getestet und die Ergebnisse mittels der Methode der kleinsten Quadrate verglichen. Es entstand die folgende Statistik.

Saure Gesamphosphatase (T-ACP)

Zahl der Probenpaare	43
Bereich der Proben	1,3 - 64,0 U/L
Durchschnitt der Referenzmethode	6,4 U/L
Durchschnitt der T-ACP Resultate	6,4 U/L
Steigung	1,20
Schnittpunkt	-1,3 U/L
Korrelations-Koeffizient	0,999

Saure Nichtprostata-Phosphatase (N-ACP)

Zahl der Probenpaare	41
Bereich der Proben	0,1 - 56,0 U/L
Durchschnitt der Referenzmethode	3,5 U/L
Durchschnitt der N-ACP Resultate	3,5 U/L
Steigung	1,14
Schnittpunkt	-0,5 U/L
Korrelations-Koeffizient	0,999

LINEARITÄT

Bei empfohlener Durchführung verläuft der Test zwischen 0 - 80 U/L (0,0-1,33 μkat/L) linear. Die Linearität auf automatisierten Instrumenten hängt vom Verhältnis zwischen verwendeter Probe- und Reagenzmenge sowie der zeitlichen Planung der Messungen ab. Es sollte auf die spezifische Instrumentenanwendung Bezug genommen werden.


SENSITIVITÄT

Bei empfohlener Durchführung beträgt die Sensitivität dieses Tests 1,2 ΔmA/min pro U/L.

LITERATURHINWEISE

- Kaplan, L.A., Pesce, A.J., Clinical Chemistry Theory Analysis and Correlation, C.V. Mosby Company, St. Louis, 1984 pp. 1087.
- Hillman, G.Z., Klin Chem., Klin. Biochem, 3, 273, 1971.
- Doe, R.P., Mellinger, G.T., and Seal U.S. Clin. Chem. 11, 943, 1965.
- Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests Third Edition 1990; 3: 4-5.
- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Saunders, Philadelphia, 1986.
- Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.

© 2004 Thermo Electron Corporation. All rights reserved.

 Thermo Electron
 189-199 Browns Road,
 Noble Park, Victoria, 3174
 AUSTRALIA
 Phone: (03) 9790 4100
 Fax: (03) 9790 4155
 Email: sales.clinicalchemistry@thermo.com
 www.thermo.com/clinicalchemistry

Thermo Electron
 331 South 104th Street
 Louisville, CO, 80027
 U.S.A.
 Phone: (800) 558 9115
 Fax: (303) 581 6429

 MediMark Europe Sarl. 11, rue Emile Zola. BP 2322
 F-38033 Grenoble Cedex 2. France
 Phone: +33 (0) 4 76 86 43 22
 Fax: +33 (0) 4 76 17 19 82



P/N: PI270040de.01 Überarbeitet April 2004

REF	Nachbestellinformation/Technische Hilfe		
	REAG A	REAG B	REAG C
TR27010	18 x 10 mL	1 x 10 mL	1 x 10 mL
TR27015	18 x 20 mL	1 x 20 mL	1 x 20 mL
	Australien	International	U.S.A.
Telefon	1800 333 110	61 3 9790 4100	(800) 558 9115
Telefax	(03) 9790 4155	61 3 9790 4155	(303) 581 6429