

# Réactif de la Phosphatase Acide

## Méthode de l'alpha-naphthylphosphate

### CARACTÉRISTIQUES DU PRODUIT

Stabilité	: 5 jours entre 2 et 8 °C
Limites de linéarité	: Jusqu'à 80 U/L
Nature de l'échantillon	: Sérum
Méthode	: Cinétique
Préparation du réactif	: Ajouter le volume spécifié d'eau distillée ou déminéralisée.

### UTILISATION PRÉVUE

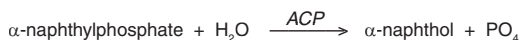
Ce réactif est prévu pour la détermination quantitative in vitro de la phosphatase acide totale et prostatique dans le sérum humain sur des systèmes manuels ou automatisés.

### INTERET CLINIQUE

Des niveaux significatifs de phosphatase acide se trouvent dans la rate, les érythrocytes, les plaquettes et la prostate. L'augmentation de la part prostatique de la phosphatase acide résulte du carcinome de la prostate et du trauma effectif. L'augmentation de la phosphatase d'acide totale se produit lors de diverses maladies du foie et du squelette, la maladie de Gaucher et la destruction excessive des plaquettes<sup>1</sup>.

### PRINCIPE DE LA METHODE

La phosphatase acide (ACP) catalyse l'hydrolyse de l'alphannaphthylphosphate en libérant l'alpha-naphthol et le phosphate. L'alpha-naphthol est alors couplé au 4-chloro-2-méthylbenzène diazoté (rouge rapide TR) pour former une teinture diazo d'une absorbance forte à 405 nm et l'augmentation de l'absorbance est directement proportionnelle au niveau de la phosphatase acide dans l'échantillon. L'ajout de L-Tartrate inhibe la phosphatase acide prostatique mais n'inhibe pas les autres isoenzymes. La différence entre les deux analyses (phosphatase acide totale et phosphatase acide non prostatique) serait le niveau de la phosphatase acide prostatique dans le sérum.<sup>2</sup>



### COMPOSITION DU RÉACTIF

#### Ingrédients actifs

	Concentration
<b>Réactif A :</b>	
α-Naphthyl phosphate	3 mmol/L
Rouge rapide TR	1 mmol/L
Acide citrique	20 mmol/L
Citrate de sodium	60 mmol/L
pH 5,3 à 20°C	
<b>Réactif B :</b>	
L-Tartrate de sodium	2 moles/L
<b>Réactif C :</b>	
Solution tampon d'acétate	3 moles/L

**PRECAUTIONS:** Ne pas ingérer. Eviter tout contact avec les yeux. En cas de débordements ou de coulures rincer les surfaces affectées à l'eau. Afin d'éliminer toutes traces de réactif, rincer avec de grandes quantités d'eau. La fiche de sécurité sur le réactif de la Phosphatase Acide contient des informations plus détaillées. L'emballage de ce produit contient du caoutchouc naturel sec Manipuler avec précaution les sertissages et les fioles en verre cassées, car les bords acérés peuvent blesser l'utilisateur.

#### Réactif A :

R41 Risque de lésions oculaires graves.  
S26 En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste.

### PRÉPARATION DES RÉACTIFS

#### Réactif A :

Reconstituer le réactif en ajoutant le volume d'eau distillée ou désionisée indiqué sur l'étiquette du flacon. Mélanger doucement jusqu'à dissolution.

#### Réactif B :

Reconstituer le réactif en ajoutant le volume d'eau distillée ou désionisée indiqué sur l'étiquette du flacon. Mélanger doucement jusqu'à dissolution.

#### Réactif C :

La solution de stabilisant est fournie prête à l'emploi.

### STABILITÉ ET CONSERVATION

- Tous les réactifs doivent être stockés réfrigérés (2-8°C) et peuvent servir jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
- Le réactif reconstitué A est stable pendant 5 jours frigorifiés (2-8°C), une fois stocké dans un flacon ambre protégé contre la lumière directe.

### SYMBOLES DE L'ÉTIQUETAGE DU PRODUIT

	Représentant Autorisé		Limites de température
	Utilisation en diagnostique in vitro		Utiliser jusque
	Numéro de lot		ATTENTION: Consulter les instructions d'utilisation
	Référence catalogue		Fabriqué par
	Consulter les instructions d'utilisation		Xi - Irritant
	Réactif A		Réactif C
	Réactif B		

- Le réactif reconstitué B réfrigéré est stable pendant 90 jours stocké réfrigéré (2-8°C). La solution peut être chauffée à 45-55°C si une cristallisation se produit lors du stockage.

#### Indications de la détérioration du réactif:

- Turbidité,
- Impossibilité de retrouver les valeurs de contrôle dans la plage affectée et/ou;
- Absorbance du réactif A >0,3 AU à 405 nm (trajet optique de 1 cm).

### PRELEVEMENT ET MANIPULATION DES ECHANTILLONS:

**Sérum:** Utiliser un sérum non hémolysé.

**Plasma:** non recommandé. Les anticoagulants d'oxalate et de fluorure interféreront avec l'analyse.

**Stockage:** La phosphatase acide est très instable au pH du sérum.<sup>3</sup> Stabiliser l'échantillon par ajout de 0,020 mL de stabilisant (réactif C) par 1 mL de sérum. L'activité enzymatique sera stable pendant trois jours à 2-8°C.

### MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Un analyseur de biochimie capable de maintenir une température constante (37°C) et de mesurer une absorbance à 405 nm.
- Consommables nécessaires au fonctionnement de l'analyseur, par ex.: cupules échantillon.
- Eau distillée ou désionisée pour la préparation du réactif et le matériel requis, par ex.: pipettes.
- Serum de contrôle normal et pathologique.

### PROCÉDURE DE DOSAGE

Les paramètres de système suivants sont recommandés. Des applications d'instruments individuelles sont disponibles sur demande auprès du groupe de support technique.

#### PARAMÈTRES DU SYSTÈME

##### Phosphatase acide totale

Température	30°/37°C
Longueur d'onde principale	405 nm (405-420 nm)
Longueur d'onde secondaire	500-650 nm
Type de dosage	Taux/Cinétique
Direction	Augmentation
Échantillon: taux de réactif	1 : 10
p. ex.: Volume de l'échantillon	0,2 mL
Réactif Vol.	2,0 mL
Délai/Retard	5 minutes
Temps de lecture	10 minutes
Limites du blanc du réactif	Basse 0,0 AU
(405 nm, chemin optique de 1 cm)	Haute 0,3 AU
Linéarité	0-80 U/L
(voir la section linéarité)	
Sensibilité	1,2 ΔmA/min par U/L
(405 nm, chemin optique de 1 cm)	

##### Phosphatase acide non prostatique

Température	30°/37°C
Longueur d'onde principale	405 nm (405-420 nm)
Longueur d'onde secondaire	500-650 nm
Type de dosage	Taux/Cinétique
Direction	Augmentation
Échantillon: taux de réactif	1 : 10,1
p. ex.: Volume de l'échantillon	0,2 mL
Réactif A Vol.	2,0 mL
Réactif B Vol.	0,02 mL
Délai/Retard	5 minutes
Temps de lecture	10 minutes
Limites du blanc du réactif	Basse 0,0 AU
(405 nm, chemin optique de 1 cm)	Haute 0,3 AU
Linéarité	0-80 U/L
(voir la section linéarité)	
Sensibilité	1,2 ΔmA/min par U/L
(405 nm, chemin optique de 1 cm)	

## CALCULS

Les résultats sont calculés, habituellement automatiquement par l'instrument, comme suit:

Activité en U/L =  $\Delta\text{Abs}/\text{min} \times \text{Facteur}$

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

Où TV = Volume total de la réaction en mL  
SV = Volume de l'échantillon en mL  
E = coefficient d'extinction millimolaire de la teinture Diazo teinture à 405 nm = 12,9  
P = Chemin optique de la cuvette en centimètres.

### Exemple:

- Phosphatase acide totale (T-ACP):  
 $\Delta\text{Abs}/\text{min} = 0,017$   
Facteur = 853  
Phos acide =  $0,017 \times 853 = 14,5 \text{ U/L}$
- Phosphatase acide non prostatique (N-ACP):  
 $\Delta\text{Abs}/\text{min} = 0,010$   
Facteur = 860  
Phos acide =  $0,010 \times 860 = 8,6 \text{ U/L}$
- La phosphatase acide prostatique est obtenue en soustrayant les résultats du dosage de la phosphatase acide non prostatique des résultats du dosage de la phosphatase acide totale pour le même échantillon.  
ACP Prostatique (U/L) = T-ACP (U/L) - N-ACP (U/L)  
ACP Prostatique (U/L) =  $14,5 - 8,6 = 5,9 \text{ U/L}$

### REMARQUES

- Les volumes de réactifs et d'échantillon peuvent être modifiés en respectant leur proportionnalité afin de s'adapter aux caractéristiques de chaque analyseur de biochimie.
- Si l'absorbance est modifiée de plus de 0,1 A/min, répéter le dosage avec un échantillon plus petit ou diluer avec une solution saline. Se rappeler de régler le facteur pour un volume d'échantillon inférieur ou multiplier le résultat final par le facteur de dilution.
- La validité des résultats dépend de la précision de l'étalonnage de l'appareil, de la synchronisation et du contrôle de la température.
- Conversion d'unité:  $\text{U/L} \times 16,67 \times 10^{-3} = \mu\text{kat/L}$

### CALIBRAGE

Non requis. Le taux de réaction est converti en U/L d'activité par un facteur de calcul. Voir la section Calcul du présent insert d'emballage.

### CONTRÔLE DE QUALITÉ

Afin d'assurer un contrôle de qualité approprié, utiliser un contrôle normal et un contrôle pathologique au moins une fois toutes les huit heures, mais également dans les contextes suivants:

- Au moins toutes les huit heures
- Lorsqu'un nouveau flacon de réactif est utilisée.
- Après une maintenance préventive ou le remplacement d'un des composants fondamentaux de l'analyseur.

Si les résultats de contrôle ne sortent pas dans leur fourchette de tolérance, procéder alors aux actions suivantes:

- Répéter les mêmes contrôles.
- Si les résultats sont encore, en dehors de leur fourchette de tolérance préparer un sérum de contrôle frais et recommencer le test.
- Si les résultats restent hors des limites sur un matériau de contrôle frais, répéter le test avec un réactif neuf.
- Si malgré ces opérations les résultats de contrôle restent en dehors de leur fourchette de tolérance, contactez notre service Applications.

### LIMITES DE LA PROCEDURE

- Éviter d'utiliser des échantillons hémolysés.
- Les études pour déterminer le niveau d'interférence de la bilirubine ont été effectuées avec un analyseur de biochimie automatisé. Les résultats suivants ont été obtenus:

**Bilirubine:** aucune interférence avec la bilirubine jusqu'à 68  $\mu\text{mol/L}$  (4 mg/dL).

- Éviter d'utiliser des échantillons lipémiques.
- Young DS<sup>4</sup> a publié une liste complète de médicaments et de substances pouvant interférer avec ce dosage.

### VALEURS ATTENDUES<sup>1,5</sup>

#### Phosphatase acide totale

À 37°C 0 - 6,0 U/L (0,0 - 0,10  $\mu\text{kat/L}$ )  
À 30°C 0 - 4,5 U/L (0,0 - 0,075  $\mu\text{kat/L}$ )

#### Phosphatase acide non prostatique

À 37°C 0 - 2,0 U/L (0,0 - 0,03  $\mu\text{kat/L}$ )  
À 30°C 0 - 1,5 U/L (0,0 - 0,025  $\mu\text{kat/L}$ )

Les valeurs indiquées ne représentent que la plage prévue pour cette méthode et ne sont que des indications. Il est recommandé à chaque laboratoire de vérifier sa plage ou de dériver un intervalle de référence pour la population qu'il sert.<sup>6</sup>

### MESURES

Les données suivantes ont été obtenues avec le réactif à l'Phosphatase Acide sur un analyseur de biochimie automatisé bien entretenu. Les utilisateurs doivent établir les performances du produit sur leur propre analyseur.

### IMPRÉCISION

Dans la session	NIVEAU I	NIVEAU II
Nombre de points de données	20	20
Moyenne (U/L)	2,9	24,5
SD	0,24	0,95
CV%	8,3	3,9
D'un jour à l'autre	NIVEAU I	NIVEAU II
Nombre de points de données	20	20
Moyenne (U/L)	3,0	27,7
SD	0,48	0,73
CV%	16,0	2,6

### COMPARAISON DE METHODES

Des études comparatives ont été menées avec un autre réactif de la Phosphatase Acide du commerce similaire. Des échantillons de sérum ont été dosés en parallèle et les résultats comparés par régression du moindre carré. Les statistiques suivantes ont été obtenues.

#### Phosphatase acide totale (T-ACP)

Nombre d'échantillons en double	43
Plage de mesures des échantillons	1,3 - 64,0 U/L
Moyenne des mesures (référence)	6,4 U/L
Moyenne des résultats de l'T-ACP	6,4 U/L
Pente	1,20
Coordonnées à l'origine	-1,3 U/L
Coefficient de Corrélation	0,999

#### Phosphatase acide non prostatique (N-ACP)

Nombre d'échantillons en double	41
Plage de mesures des échantillons	0,1 - 56,0 U/L
Moyenne des mesures (référence)	3,5 U/L
Moyenne des résultats de l'N-ACP	3,5 U/L
Pente	1,14
Coordonnées à l'origine	-0,5 U/L
Coefficient de Corrélation	0,999

### LINÉARITÉ:

Utilisé selon les prescriptions, le dosage est linéaire de 0 à 80 U/L (0,0-1,33  $\mu\text{kat/L}$ ). La linéarité sur les appareils automatiques dépendra du rapport volume de l'échantillon sur volume de réactif utilisé et du temps des mesures. L'application spécifique à l'appareil doit être consultée.


### SENSIBILITÉ

Effectué selon les recommandations, ce dosage a une sensibilité de 1,2  $\Delta\text{mA}/\text{min}$  par U/L.

### RÉFÉRENCES

- 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



REF

### Information Commandes et Support Technique

	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

	<b>L'Australie</b>	<b>International</b>	<b>U.S.A.</b>
<b>Téléphone</b>	1800 333 110	61 3 9790 4100	(800) 558 9115
<b>Télécopie</b>	(03) 9790 4155	61 3 9790 4155	(303) 581 6429