

ČESKY	REF 17617 - 17304	Acid Phosphatase	Kinetické stanovení totální kyselé fosfatázy (ACP) pomocí 1-naftylfosfátu / stálé červeni v séru. Kinetické stanovení neprostatické kyselé fosfatázy (ACP-NPP) pomocí 1-naftylfosfátu / stálé červeni / tartrátu v séru.	IVD CE
			REF 17617: REAGENT 1a: 6x20 mL - REAGENT 1b: 6x20 mL powder (prášek) Tartrate REAGENT: powder (prášek) - REAGENT 2: 1x3 mL REF 17304: REAGENT 1a: 1x45 mL - REAGENT 1b: 14x3 mL powder (prášek) Tartrate REAGENT: powder (prášek) - REAGENT 2: 1x3 mL	
STANDARD / CALIBRATOR: termín se vztahuje na standard / kalibrátor REAGENT: termín se vztahuje na jednoduchou reagensii CONTROL: termín se vztahuje na řízení				

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ PŘI POUŽÍVÁNÍ

Vedle možných rizik souvisejících s reaktivními komponentami může produkt obsahovat nereaktivní komponenty, jako jsou konzervační činidla (např. azid sodný a další) a detergenty. Celková koncentrace těchto komponent je nižší než limity hlášené směrnicemi 67/548/EHS a 1999/45/EHS a jejich úpravy a doplňky týkající se klasifikace, štítkování a balení nebezpečných přípravků (reagensii) značení a balení nebezpečných přípravků byly vytvořeny stejně. Nicméně se doporučuje zacházet s tímto výrobkem opatrně, zamezit jeho požití a kontaktu s očima, pokožkou a sliznicemi a laboratorní reagensie používat za dodržování zásad správné laboratorní praxe.

SOUHRN

Kyselá fosfatáza jsou skupina enzymů, které lze nalézt v játrech, slezině, erytrocytech, krevních destičkách, kostní dřeni a prostatické žláze. Poměr totální kyselé fosfatázy a prostatické fosfatázy je u zdravých mužů cca 1:1. Aktivita nárůstů totální kyselé fosfatázy u Pagetovy nemoci, hyperparatyroidismu, rakoviny kostí, Gaucherovy nemoci, Niemann-Pickovy nemoci a leukémie postihující myelocyty. Hladiny prostatické kyselé fosfatázy se zvyšují u rakoviny prostaty.

PRINCIP

Kyselá fosfatáza katalyzuje hydrolýzu v kyselém médiu 1-naftylfosfátu (1-NP) do 1-naftolu a fosfátu. 1-naftol reaguje s diazo-2-chloro-5-toluenem (TR sůl stálé červeni) a vytváří sloučeninu azobarviva, kde je nárůst absorbance přímo úměrný aktivitě totální kyselé fosfatázy (ACP). Prostatická kyselá fosfatáza (ACP-P) je inhibována tartrátem a detekuje se nepřímou metodou odečtem mezi ACP a neprostatickou kyselou fosfatázou (ACP-NPP).

REAGENCIE

Pokud se reagensie uchovávají v neotevřených lahvičkách za teploty 2-8 °C, jsou stálé do data expirace uvedeného na obalu. **Reagensie musejí být čiré; jsou-li zakaleny, nepoužívejte je.** Komponenty soupravy a počáteční koncentrace reaktivních složek:

- **REAGENT 1a**
- **REAGENT 1b** prášek (powder)
- **REAGENT tartrát** prášek (powder)
- **lžička**
- **REAGENT 2** (kyselina octová 0,1 mol/l)

Koncentrace používané v roztoku R1 (ACP) - viz přípravu roztoků reagensii: citrátový pufr 0,1 mol/l pH 5,4, 1-NP 10 mmol/l, tartrátová sůl stálé červeni > 1,0 mmol/l
Koncentrace používané v roztoku R1 (ACP-NPP) - viz přípravu roztoků reagensii: citrátový pufr 0,1 mol/l pH 5,4, 1-NP 10 mmol/l, tartrátová sůl stálé červeni > 1,0 mmol/l, tartrát (vinan) sodný 0,18 mol/l

Pokud je na štítku reagensie uveden čárový kód a kódové číslo lahvičky, pak platí pro použití produktu na analyzátoch Hitachi 911/912.

Nahlédněte do části "Použití" a bližších informací, které lze obdržet na vyžádání.

POZNÁMKY A OMEZENÍ

SPECIÁLNÍ INFORMACE O REAGENCIÍCH:

- 1) Test prostatické kyselé fosfatázy se doporučuje provádět jen na vzorcích s celkovou aktivitou totální kyselé fosfatázy > 3,5 U/l, neboť s aktivitou totální kyselé fosfatázy nižší než výše uvedený limit se dají získat nespolehlivé výsledky.
- 2) Mírně růžové zbarvení roztoků R1 nemá vliv na výkonnost reagensii.

PŘÍPRAVA ROZTOKŮ REAGENCIÍ**REF 17617**

Roztok R1 (ACP): rozpusťte jednu lahvičku REAGENT 1b spolu s obsahem jedné lahvičky REAGENT 1a. Nechte asi 10 minut stát a mírně promíchejte.

Stabilita: 7 dní od rozpuštění při teplotě 2-8 °C, je-li zamezeno kontaminaci a lahvička je ihned po použití znovu uzavřena.

Roztok R1 (ACP-NPP): přidejte obsah lžičky (odpovídající 35-40 mg) tartrátové REAGENT k 5 ml roztoku R1 (ACP). Mírně míchejte do úplného rozpuštění.

Stabilita: 7 dní při teplotě 2-8 °C, je-li zamezeno kontaminaci a lahvička je ihned po použití znovu uzavřena.

REF 17304

Roztok R1 (ACP): rozpusťte obsah lahvičky REAGENT 1b s 3 ml REAGENT 1a. Nechte asi 10 minut stát a mírně promíchejte. Stabilita: 7 dní od rozpuštění při teplotě 2-8 °C, je-li zamezeno kontaminaci a lahvička je ihned po použití znovu uzavřena.

Roztok R1 (ACP-NPP): přidejte obsah lžičky (odpovídající 35-40 mg) tartrátové reagensie REAGENT do 1 ml roztoku R1 (ACP). Mírně míchejte do úplného rozpuštění. Stabilita: 7 dní při teplotě 2-8 °C, je-li zamezeno kontaminaci a lahvička je ihned po použití znovu uzavřena.

KALIBRACE - Ke kalibraci používejte pouze následující materiály:

Clin Chem Cal **REF 16550** **4x3mL**
Lyofilizované kalibrační sérum. Při použití se řiďte pokyny přiloženými k soupravě.

KONTROLA KVALITY

K ověření přesnosti testu použijte následující kontrolní materiály na různých úrovních analytu:

Clin Chem Control 1 **REF 16150** **6x5mL**
Clin Chem Control 2 **REF 16250** **6x5mL**
Lyofilizované kontrolní sérum. Při použití se řiďte pokyny přiloženými k soupravě.

VZOREK

Čerstvé sérum. Nepoužívejte hemolyzované, ikterické nebo lipemické vzorky. Odebírejte vzorky postupem NCCLS popsaným v literatuře⁽¹⁾.

Ježto aktivita vzorku klesá o cca 50% za hodinu v pokojové teplotě, okyselte vzorek ihned po odběru přidáním 20 µl REAGENT 2 na každý ml čerstvého séra. **Stabilita okyseleného vzorku: 5 dní při teplotě 2-8 °C.**

**NÁSTROJE A MATERIÁLY
POTŘEBNÉ, AVŠAK NEDODANÉ**

- Běžné laboratorní vybavení.
- Fotometr s filtry nebo spektrofotometr

ANALYTICKÝ POSTUP

Vlnová délka: 405 nm
 Délka dráhy: 1 cm
 Teplota: 37 °C
 Vzorek / roztok R1 (ACP-NPP): 1/10
 Vzorek / roztok R1 (ACP-NPP): 1/10
 Reakce: kinetická (nárůst)
 Před použitím nechte reagentie nabýt pokojové teploty. Proporcionální změnou reakčních objemů uvedených v analytickém postupu se výsledek nezmění.

Do kyvety umístíte:	ACP	ACP-NPP
Vzorek	0,10 ml	0,10 ml
Roztok R1 (ACP)	1,0 ml	-
Roztok R1 (ACP-NPP)	-	1,0 ml

Míchejte a inkubujte 4 minuty při pracovní teplotě. Odečtěte absorbanci po 1 minutě a zopakujte odečty absorbance za přesně 1 a 2 minuty. Vypočítejte průměr $\Delta A/\text{min}$ zjištěný pro jak ACP tak ACP-NPP.

VÝPOČET

ACP: $\Delta A/\text{min ACP} \times F = \text{ACP činnost v U/l}$
 $F = 743$ při 405 nm

ACP-NPP: $\Delta A/\text{min ACP-NPP} \times F = \text{ACP-NPP činnost v U/l}$
 $F = 743$ při 405 nm

ACP-P: $\text{ACP} - \text{ACP-NPP} = \text{ACP-P}$ (prostatická kyselá fosfatáza) aktivita v U/L

Tento faktor F platí pouze pro výše uvedené pracovní podmínky (vlnová délka, objem vzorku, objem koncové reakce a délka dráhy).

REFERENČNÍ HODNOTY

Sérum **ACP:** $\leq 4,7 \text{ U/l}$
ACP-P: $\leq 1,6 \text{ U/l}$

Doporučuje se, aby si každá laboratoř stanovila své očekávané rozmezí.

HODNOTY VÝKONNOSTI (stanoveno na automatickém analyzátoru)

Interference (ACP/ACP-NPP): test není ovlivněn přítomností bilirubinu do 20 mg/dl, hemoglobinu do 0,15 g/dl a triglyceridů do 400 mg/dl.

Rozsah měření (ACP/ACP-NPP): 0,4 - 75 U/l. Pokud je koncentrace ve vzorku vyšší než 75 U/l, je třeba vzorek zředit normálním fyziologickým roztokem v poměru 1:10 a výsledek vynásobit deseti.

Intraanalytická přesnost: byla stanovena z 20násobně opakované analýzy každé kontroly (3 úrovně - L1/L2/L3). Byly získány tyto výsledky:

ACP - L1: průměr 6,7 U/l, směrod. odch. 0,26, var. koef. 3,87% / L2: průměr 13,8 U/l, směrod. odch. 0,37, var. koef. 2,70% / L3: průměr 28,0 U/l, směrod. odch. 0,64, var. koef. 2,30%.

ACP-NPP - L1: průměr 2,8 U/l, směrod. odch. 0,19, var. koef. 6,73% / L2: průměr 3,9 U/l, směrod. odch. 0,18, var. koef. 4,50% / L3: průměr 6,0 U/l, směrod. odch. 0,23, var. koef. 3,86%.

Interanalytická přesnost: byla zjišťována po dobu 10 dní na 2 kopiích každé kontroly (3 úrovně - L1/L2/L3). Byly získány tyto výsledky:

ACP (během postupu) - L1: průměr 6,64 U/l, směrod. odch. 0,26, var. koef. 3,94% / L2: průměr 13,84 U/l, směrod. odch. 0,36, var. koef. 2,62% / L3: průměr 28,10 U/l, směrod. odch. 0,61, var. koef. 2,16%.

ACP (mezi postupy) - L1: průměr 6,64 U/l, směrod. odch. 0,27, var. koef. 4,06% / L2: průměr 13,84 U/l, směrod. odch. 0,37, var. koef. 2,64% / L3: průměr 28,10 U/l, směrod. odch. 0,62, var. koef. 2,22%.

ACP-NPP (během postupu) - L1: průměr 2,93 U/l, směrod. odch. 0,18, var. koef. 6,20% / L2: průměr 3,90 U/l, směrod. odch. 0,17, var. koef. 4,41% / L3: průměr 5,96 U/l, směrod. odch. 0,22, var. koef. 3,64%.

ACP-NPP (mezi postupy) - L1: průměr 2,93 U/l, směrod. odch. 0,17, var. koef. 5,88% / L2: průměr 3,90 U/l, směrod. odch. 0,19, var. koef. 4,95% / L3: průměr 5,96 U/l, směrod. odch. 0,23, var. koef. 3,82%.

Citlivost (ACP/ACP-NPP): 0,4 U/l. Citlivost byla vypočtena pro 10násobně opakovanou analýzu normálního fyziologického roztoku a vyjadřuje se ve tvaru "průměrná nulová hodnota + trojnásobek směrodatné odchylky".

Přesnost: tento test (y) byl porovnán s komerčně dostupnou metodou (x). Byly získány tyto výsledky:

ACP: $N = 60, r = 0,99705, y = 1,0162x + 0,10151$
ACP-NPP: $N = 60, r = 0,99788, y = 1,1325x - 0,098874$

ZACHÁZENÍ S ODPADY

Reagentie je třeba likvidovat v souladu s místními předpisy.

LITERATURA

- 1) NCCLS. Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard - Fifth Edition (H3-A5). Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2003.
- 2) Kaplan, L.A., Pesce, A.J.: "Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1996).
- 3) EU-Dir 1999/11 Commission Directive of 8 March 1999 adapting to technical progress the principles of Good Laboratory Practice as specified in Council Directive 87/18/EEC.
- 4) Jakobs, D.S., Kasten, Jr., B.L., Demmott, W.R., Wolfson, W.L.: "Laboratory Test Handbook", Lexi-Comp and Williams & Wilkins Ed. (2nd Edition - 1990).