

Kit per la determinazione della fosfatasi acida nel siero Metodo cinetico al naftilfosfato

PRINCIPIO

La fosfatasi acida (ACP) catalizza, in ambiente acido, l'idrolisi dell'alfa-naftilfosfato (alfa-NP) in alfa-naftolo e fosfato. L'alfa-naftolo reagisce con il diazo-2-cloro-5-toluene (Fast Red TR Salt) e forma un azocomposto con conseguente aumento di assorbanza a 405 nm che è proporzionale all'attività della fosfatasi acida totale (ACP) nel campione esaminato. La fosfatasi acida di origine prostatica è inibita dal tartrato e viene determinata con metodo indiretto per semplice differenza tra la fosfatasi acida totale (ACP) e la fosfatasi acida non prostatica.

REATTIVI - Concentrazione iniziale

R1 Tampone citrato 150.0 mmol/l.
R2 1-Naftilfosfato 10.0 mmol/l; fast red tr salt 2.2 mmol/l.
R3 Tartrato di sodio 530.0 mmol/l.

CAMPIONI

- Siero.

Note

- Non utilizzare plasma.
- Non utilizzare campioni emolizzati. Il prelievo deve essere effettuato di preferenza dopo 8 ore di digiuno.
- Nei campioni acidificati preventivamente la fosfatasi acida è stabile 6 giorni a 2-8°C.

VALORI DI RIFERIMENTO

Siero (U/l)	UOMO	DONNA	PROSTATICA
37°C fino a	5.4	4.2	1.7

I valori di riferimento sono da considerarsi indicativi in quanto ogni laboratorio dovrebbe ricercare quelli della popolazione su cui opera. I risultati del test dovrebbero essere interpretati unitamente alle informazioni derivanti dalle valutazioni cliniche del paziente.

PREPARAZIONE DEI REATTIVI

- *Fosfatasi acida totale*: sciogliere il contenuto del flacone **R2** con 3 ml di tampone **R1** e contrassegnare con A.
 - *Fosfatasi acida non prostatica*: come al punto precedente, poi aggiungere 0.03 ml di tartrato di sodio **R3** e contrassegnare con B.
- Togliere i reattivi dal frigo solo il tempo necessario per il loro utilizzo e richiederli subito dopo.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

- Conservare il kit a 2-8°C. Non congelare i reattivi.
- Stabilità del reattivo ricostituito: 2 giorni a 2-8°C - 6 ore a 15-25°C.
- Stabilità del reattivo con R3: 2 giorni a 2-8°C - 6 ore a 15-25°C.

NOTE

- Il kit con la presente metodica deve essere utilizzato in manuale. Per l'utilizzo in automatico consultare le applicazioni specifiche.
- Valutare attentamente i risultati se l'estinzione del reattivo di lavoro è > 0.300 a 405 nm.
- Evitare di esporre i reattivi alla luce diretta, contaminazione ed evaporazione.
- I volumi indicati nel procedimento possono essere variati proporzionalmente.
- In caso di reclamo o di richiesta del controllo di qualità del presente kit, indicare il numero di lotto riportato sulla confezione o, in alternativa, il numero di lotto dei singoli componenti.

MATERIALI AUSILIARI

Materiali necessari non contenuti nel kit: soluzioni diluenti, vetreria e monouso, sistemi di dosaggio e misurazione, calibratori per la taratura degli strumenti.

CONTROLLO DI QUALITÀ

È necessario eseguire i controlli ad ogni utilizzo del kit e verificare che i valori ottenuti siano inclusi nell'intervallo di riferimento riportato nelle istruzioni d'uso.
Sieri consigliati:

REF 20350 Precise Norm

REF 20360 Precise Path

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

Il prodotto non è classificato come sostanza pericolosa (DLg. N.285 art.28 Legge n.128 del 1998). La concentrazione totale dei componenti è inferiore ai limiti riportati dalle Direttive 67/548/CEE e 88/379/CEE e successive modifiche sulla classificazione, imballaggio ed etichettatura delle sostanze pericolose. È consigliabile tuttavia maneggiare il prodotto con cautela secondo le norme di buona pratica di laboratorio.

SMALTIMENTO RIFIUTI

Il prodotto deve essere smaltito secondo le locali normative in materia di gestione dei rifiuti.

PROCEDIMENTO

Lunghezza d'onda λ : 405 nm
 Temperatura di lavoro 37°C
 Cammino ottico 1 cm
 Tipo di reazione cinetica (in incremento)

Portare i reattivi a 15-25°C prima del loro utilizzo.

- PROCEDIMENTO "Fosfatasi acida totale"

CAMPIONE	100 μ l
REATTIVO A	1000 μ l

Mescolare e dopo 5 min. a 37°C leggere l'estinzione del campione (EC) contro acqua distillata al tempo 0 e dopo 1, 2, 3 minuti. Calcolare la variazione media di estinzione per minuto ($\Delta E/min$).

- PROCEDIMENTO "Fosfatasi acida non prostatica"

CAMPIONE	100 μ l
REATTIVO B	1000 μ l

Mescolare e dopo 5 min. a 37°C leggere l'estinzione del campione (EC) contro acqua distillata al tempo 0 e dopo 1, 2, 3 minuti. Calcolare la variazione media di estinzione per minuto ($\Delta E/min$).

CALCOLO

Fosfatasi acida totale (U/l) = $\Delta E/min \times 750$
Fosfatasi acida non prostatica (U/l) = $\Delta E/min \times 750$
Fosfatasi prostatica (U/L) = Fosfatasi acida totale - Fosfatasi acida non prostatica

PRESTAZIONI DEL REATTIVO

Interferenze (ACP)

I trigliceridi non interferiscono con il test sino alla concentrazione di 5 g/l. La bilirubina interferisce sempre con il test, anche a concentrazioni minime. L'emoglobina interferisce sempre con il test, anche a concentrazioni minime.

Interferenze (ACP NON PROSTATICA)

I trigliceridi non interferiscono con il test sino alla concentrazione di 400 mg/dl. La bilirubina non interferisce sino alla concentrazione di 20 mg/dl. L'emoglobina non interferisce sino alla concentrazione di 1.5 g/dl.

Linearità (ACP)

La reazione è lineare sino alla concentrazione di 150 U/l. Campioni superiori a 150 U/l devono essere diluiti con soluzione fisiologica. Moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

Linearità (ACP NON PROSTATICA)

La reazione è lineare sino alla concentrazione di 70 U/l. Campioni superiori a 70 U/l devono essere diluiti con soluzione fisiologica. Moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

Precisione "intra-Assay" (NELLA SERIE)

Determinata su 30 replicati per ciascun controllo (L-N-H) (Low-Normal-High). Risultati ottenuti:

ACP			
MEDIA	L = 5.93	N = 12.08	H = 15.97
D.S.	0.16	0.32	0.47
C.V.%	2.66	2.64	2.92

Precisione "inter-Assay" (FRA LE SERIE)

Determinata su 15 replicati per ciascun controllo (L-N-H) per 3 giorni. Risultati ottenuti:

ACP			
MEDIA	L = 5.93	N = 12.12	H = 16.04
D.S.	0.15	0.30	0.38
C.V.%	2.48	2.50	2.35

Correlazione

Un metodo equivalente preso a riferimento, correlato su 21 campioni con il reattivo in esame, ha dato un fattore di correlazione $r = 0.99$

BIBLIOGRAFIA

Z. Klin. Chem. & Klin. Biochem., (1972), 10, 182.
 Szasz G. et al., Z. Kinderheilk., (1971), 111, 233.

SIMBOLOGIA



Consultare istruzioni per l'uso



Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79/CE)



Limiti temperatura di conservazione



Dispositivo medico-diagnostico in vitro



Fabbricante

Kit for measurement of acid phosphatase in serum Kinetic naphthylphosphate method

PRINCIPLE

Acid phosphatase (ACP), in acid environment, catalyzes the alpha-naphthylphosphate (alpha-NP) hydrolysis in alpha-naphtol and phosphate. Alpha-naphtol reacts with diazo-2-chloro-5-toluene (Fast Red TR Salt) and forms an azo dye compound with consequent absorbance increasing at 405 nm which is proportional to the total acid phosphatase activity in the tested sample. Acid phosphatase of prostatic origin is inhibited by tartrate and is measured by indirect method for the difference between total (ACP) and non-prostatic acid phosphatase.

REAGENTS

- R1** Citrate buffer 150.0 mmol/l;
R2 1-Naphthylphosphate 10.0 mmol/l; fast red TR salt 2.2 mmol/l
R3 Sodium tartrate 530.0 mmol/l

SAMPLE

- Serum.

Note

- Do not use plasma.
- Do not use samples with haemolysis. The withdrawal must be made, preferably, after 8 hours of fasting.
- In the samples previously acidified the acid phosphatase is stable up to 6 days at 2-8°C.

REFERENCE VALUES

Serum [U/l]	MAN	WOMAN	PROSTATIC
37°C up to	5.4	4.2	1.7

References values are considered indicatives since each laboratory should establish references ranges for its own patient's population. The analytical results should be evaluated with other information coming from patient's clinical story.

PREPARATION OF REAGENTS

- *Total acid phosphatase*: dissolve the content of **R2** vial with 3 ml of **R1** solution and mark **A**.
 - *Non-prostatic acid phosphatase*: as preceding point, then add 0.03 ml of **R3** sodium tartrate and mark **B**.
- Keep out the reagents from refrigerator only for the use and recap them immediately.

STORAGE AND STABILITY

- Store the kit at 2-8°C. Do not freeze the reagents.
- Reconstituted reagent stability: 2 days at 2-8°C – 6 hours at 15-25°C.
- Stability of reagent with R3: 2 days at 2-8°C – 6 hours at 15-25°C.

NOTE

- The kit, according to this method, must be used in manual procedures. About automatic using follow specific applications.
- Evaluate carefully the results if working reagent absorbance is > 0.300 at 405 nm.
- Avoid direct light, contamination and evaporation.
- The volumes in the procedure can be changed proportionally.
- In case of complaint or quality control request, refer to the lot number on the package or the lot number on the singles vials.

AUXILIARY EQUIPMENT

Materials not included in the kit: diluent solutions, laboratory glassware, disposable tips, photometers and calibrators.

QUALITY CONTROLS

It's necessary, every time the kit is used, to make the quality controls and to check that values obtained are within the acceptance range provided in the insert.

Suggested serum:

REF 20350 Precise Norm **REF** 20360 Precise Path

PRECAUTION IN USE

The product is not classified as dangerous (DLg. N. 285 art. 28 l. n. 128/1998). The total concentration of components is lower than the limits reported by 67/548 and 88/379 CE Regulations (and following modifications) about classification, packaging and labelling of dangerous substances. However the reagent should be handled with caution, according to good laboratory practice.

WASTE MANAGEMENT

Please refer to the local legal requirements.

PROCEDURE

Wavelength λ : 405 nm
 Working temperature 37°C
 Optical path 1 cm
 Reaction kinetic (increasing)

Bring the reagents at 15-25°C before using them.

- "Total acid phosphatase" PROCEDURE

SAMPLE	100 μ l
REAGENT A	1000 μ l

Mix, then after 5' at 37°C measure the absorbance of sample (EC) against distilled water every minute during 3 minutes. Calculate the average absorbance difference per minute ($\Delta E/min$).

- "Non-prostatic acid phosphatase" PROCEDURE

SAMPLE	100 μ l
REAGENT B	1000 μ l

Mix, then after 5' at 37°C measure the absorbance of sample (EC) against distilled water every minute during 3 minutes. Calculate the average absorbance difference per minute ($\Delta E/min$).

CALCULATION

$$\begin{aligned} \text{Total acid phosphatase [U/l]} &= \Delta E/min \times 750 \\ \text{Non-prostatic acid phosphatase [U/l]} &= \Delta E/min. \times 750 \\ \text{Prostatic phosphatase [U/l]} &= \text{Total acid phosphatase} - \text{Non prostatic} \end{aligned}$$

ANALYTICAL PERFORMANCES

Interferences (ACP)

Triglycerides do not interfere up to concentration of 5 g/l.
 Bilirubin always interferes, also at minimum concentrations.
 Hemoglobin always interferes, also at minimum concentrations.

Interferences (ACP NON-PROSTATIC)

Triglycerides do not interfere up to concentration of 400 mg/dl.
 Bilirubin does not interfere up to concentration of 20 mg/dl.
 Hemoglobin does not interfere up to concentration of 1.5 g/dl.

Linearity (ACP)

Reaction is linear up to a concentration of 150 U/l. Samples with values exceeding 150 U/l must be diluted with saline solution. Multiply, then, the result for diluting factor.

Linearity (ACP NON-PROSTATIC)

Reaction is linear up to a concentration of 70 U/l. Samples with values exceeding 70 U/l must be diluted with saline solution. Multiply, then, the result for diluting factor.

"Intra-Assay" precision (within-Run)

Determined on 30 samples for each control (L-N-H) (Low-Normal-High).

Results:

ACP

MEAN L = 5.93 N = 12.08 H = 15.97
 S.D. 0.16 0.32 0.47
 C.V.% 2.66 2.64 2.92

"Inter-Assay" precision (between-run)

Determined on 15 samples for each control (L-N-H) for 3 days.

Results:

ACP

MEAN L = 5.93 N = 12.12 H = 16.04
 S.D. 0.15 0.30 0.38
 C.V.% 2.48 2.50 2.35

Correlation

A study based comparing this method with a similar method on 21 samples has given a correlating factor $r = 0.99$

BIBLIOGRAPHY

Z. Klin. Chem. & Klin. Biochem., (1972), 10, 182.
 Szasz G. et al., Z. Kinderheilk., (1971), 111, 233.

SYMBOLS



Read instruction for use



CE mark (requirement of 98/79 regulation)



Storing temperature limits



In vitro medical device



Producer