

#### Zweckbestimmung

Der Wako Zinc-Test ist ein diagnostischer Test zur quantitativen *in vitro*-Bestimmung von Zink in Serum, Plasma (kein EDTA), Liquor (CSF) und Urin.

#### Zusammenfassung und Eigenschaften des Tests

Der Wako Zinc-Test ist ein Photometertest mit der Präzision und Richtigkeit der Atomabsorptionsphotometrie.

Der Wako Zinc-Test beinhaltet Natriumsalz von 2-(5-Bromo-2-Pyridylazo)-5-[N-Propyl-N-(3-Sulfopropyl)Amino]Phenol (5-Br-PAPS) als chromogenen Bestandteil für den empfindlichen Zink-Farbstest. Der Wako Zinc-Test dient der genauen Ermittlung der Zinkmenge in Serum, Plasma, Zerebrospinaler Flüssigkeit (Liquor) und Urin.

#### Testprinzip

Trichloressigsäurelösung wird der Probe zugegeben um die Proteine auszufällen und Zink in Lösung zu bringen. Nach der Fällung, werden die Farbreagenzien A und B zum Überstand gegeben. Das Zink bindet sich an 5-Br-PAPS unter Bildung eines rötlich-violetten Chelats. Die Extinktion dieses rötlich-violetten Chelats wird bei 560 nm gemessen und ist direkt proportional zu der Zinkmenge in der Probe. Obwohl das eingesetzte Farbreagenz auch für die Bestimmung von Eisen, Kupfer, Kobalt und Nickel geeignet ist, werden Reaktionen mit diesen Metallen durch Maskierungstoffe im Testkit unterdrückt. 5-Br-PAPS bindet Zink mit einer 2:1 molaren Stöchiometrie.

#### Reagenzien

##### Inhalt und Lagerbedingungen

<b>R1:</b>	Farbreagenz A	Lagern bei 2 - 25 °C*
<b>R2:</b>	Farbreagenz B	Lagern bei 2 - 25 °C*
<b>R3:</b>	Enteiweißungsreagenz	Lagern bei 2 - 25 °C
<b>CAL:</b>	Standard-Lösung	Lagern bei 2 - 25 °C

\* Farbreagenzien A und B bis zum Verfallsdatum lichtgeschützt aufbewahren

##### Bestandteile

<b>R1:</b> 2 Flaschen	Farbreagenz A Carbonat-Bicarbonat-Puffer (pH 9,8) 5-Br-PAPS Natriumcitrat Dimethylglyoxim	60 ml 0,2 mol/l 0,07 mmol/l 170 mmol/l 4 mmol/l
<b>R2:</b> 1 Flasche	Farbreagenz B Salicylaldoxim	30 ml 29 mmol/l
<b>R3:</b> 1 Flasche	Enteiweißungsreagenz	30 ml 7 %
<b>CAL:</b> 1 Flasche	Standard-Lösung Zink	10 ml 200 µg/dl

#### Herstellung und Haltbarkeit der Reagenzlösung

##### Gebrauchslösung:

15 ml Farbreagenz B (R2) in eine Flasche (60ml) Farbreagenz A (R1) geben und sorgfältig mischen. Optional: R1 und R2 im Verhältnis 4 + 1 mischen (z.B. 20 ml Farbreagenz A + 5 ml Farbreagenz B). Nach dem Mischen ist die Farbreagenzlösung bei Raumtemperatur (unter 35 °C) 2 Tage oder 1 Woche bei 2 - 10 °C haltbar!

Nach der Herstellung steigt der Leerwert mit der Zeit leicht an, das hat auf die Messwerte keinen Einfluss.

Alle Arbeitsmaterialien müssen frei von Zinkkontaminationen sein. Die Reagenzgefäße müssen geschlossen gehalten werden um eine Kontamination durch Luftpartikel zu vermeiden.

Es ist möglich die Farbreagenzien A und B auch einzeln zu verwenden, dann muss das Farbreagenz A zuerst eingesetzt werden.

#### Probengewinnung und -vorbereitung

##### Serum, Plasma (kein EDTA), CSF, Urin als Proben verwenden.

- Kontamination mit Trennhilfsmitteln, wie EDTA, vermeiden, denn dies hat zur Folge, dass falsch-niedrige Zinkwerte gemessen werden. Heparin, Citrat und Oxalat als Antikoagulantien beeinträchtigen die Messung nicht.
- Im menschlichen Blut sind 75 - 85 % des Zinks in den roten Blutkörperchen enthalten, 12 - 22 % im Plasma und 3 % in den weißen Blutkörperchen. Bei einer Hämolyse ist der gemessene Zinkgehalt fälschlich zu hoch. In diesem Fall bitte eine neue Blutprobe nehmen. Zink kann im Serum oder Plasma aber auch im CSF und Urin bestimmt werden.
- Kontrollseren, die für die Zinkbestimmung verwendet werden, dürfen nach der Rekonstitution nicht mehr mit dem Flaschenstopfen verschlossen werden (Zinkkontamination). Parafilm verwenden!
- Bei der Blutabnahme den Gebrauch von Hilfsmitteln\*\*, die zinkhaltige Gummimaterialien enthalten, vermeiden.

\*\* Bsp. Blutabnahmeröhrchen, Spritzen

#### Reinigung der Arbeitsmaterialien

Leitungswasser kann größere Mengen an Eisen und Kupfer aber auch geringe Mengen an Zink enthalten. Leitungswasser führt zu einer Verschleppung und ergibt eine fehlerhafte Zinkmessung der Probe. Alle Glaswaren müssen mit verdünnter Salzsäure oder Salpetersäure (1 Teil HCl oder HNO<sub>3</sub> verdünnt mit 9 Teilen deionisiertes Wasser) und dann mit deionisiertem oder destilliertem Wasser gespült und getrocknet werden. Bei einer Abweichung der Doppelbestimmung der Leerwerte über 3 %, muss eine Kontamination der Glasgegenstände in Betracht gezogen werden.

#### Standardverfahren (manuell)

Alle verwendeten Hilfsmittel (Pipettenspitzen, Aqua dest. Trichloressigsäure) müssen zinkfrei sein. Zur Reinigung der Proben- und Reagenzgefäße diese in 1:10 mit Wasser verdünnte Triton X-100-Lösung spülen, dann 1 - 2 Stunden in verdünnte HCl oder HNO<sub>3</sub> legen und mit destilliertem oder deionisiertem Wasser nachspülen. Mit der Öffnung nach unten trocknen.

Wellenlänge:	560 nm (Hg 546 nm)
Küvette:	1 cm Schichtdicke
Inkubationstemperatur:	+15 ~ 35 °C

Messung von Probe und Standard gegen Reagenzienleerwert (RL). Bei jeder neuen Lot einen Reagenzienleerwert und ein bis zwei Standards einsetzen

#### Details des Verfahrens

In Reagenzgläser	Makroansatz			Halbmikroansatz		
	Probe	Std.	RL	Probe	Std.	RL
pipettieren						
Probe oder Kontrolle	0,5 ml			0,2 ml		
Standard		0,5 ml			0,2 ml	
Dest. od. deionis. Wasser			0,5 ml			0,2 ml
Enteiweißungsreagenz	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml
Überstand	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml
Gebrauchslösung	2,5 ml	2,5 ml	2,5 ml	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml

Probensatz gründlich mischen (Mixer oder Rüttelmischer) und 10 min bei 3000 U/min. zentrifugieren.

Gut mischen und nach 10 min Inkubation, Extinktionen von Probe (A<sub>s</sub>) und Standard (A<sub>Std</sub>) gegen RL messen. Der gebildete Farbstoff ist bei Raumtemperatur 1 Stunde stabil.

#### Grenzen des Verfahrens

Liegt der Zinkwert über 500 µg/dl, Probe 1+1 mit physiologischer Kochsalzlösung oder destilliertem Wasser verdünnen, den Test wiederholen und das Messergebnis mit 2 multiplizieren.

#### Ergebnisse

##### Berechnung von der Kalibrationskurve

Die Zinkkonzentration die dem gemessenen Absorptionswert der Probe (A<sub>s</sub>) entspricht, wird durch Interpolation von der Kalibrationskurve ermittelt.

##### Formel

$$\text{Zinkkonzentration Probe } (\mu\text{g/dl}) = \frac{A_s}{A_{Std}} \times 200$$

#### Bestimmung von Zink im 24-Stunden-Urin

##### Probenvorbereitung

24 h Sammelurin mit einigen Tropfen konzentrierter Salzsäure bis zum pH 3 - 4 ansäuern. Nach dem Auflösen des Sediments (mögliche Zinkadsorption), kann die Urinprobe auch ohne Enteiweißung zur Bestimmung eingesetzt werden.

##### Formel

$$\text{Zink Urinprobe } (\mu\text{g/Tag}) = \frac{A_s}{A_{Std}} \times 200 \times 10 \times \text{Urinvolumen (l)}$$

#### Referenzbereiche\*

Serum und Plasma

Männer:	72,6 - 127 µg/dl (11,1 - 19,5 µmol/l)
Frauen:	70,0 - 114 µg/dl (10,7 - 17,5 µmol/l)

In der Schwangerschaft und während der Menstruation können die Konzentrationen subnormale Werte erreichen.

Schulkinder:	63,8 - 110 µg/dl (9,8 - 16,8 µmol/l)
Neugeborene:	49,5 - 99,7 µg/dl (7,6 - 15,3 µmol/l)
Urin:	300 - 800 µg/24h

Da diese Referenzwerte von Alter, Geschlecht, Ernährung, Standort und anderen Faktoren abhängig sind, sollte jedes Labor seine eigenen Werte für dieses Verfahren bestimmen.

#### Leistungsdaten des Tests

- Richtigkeit**  
Die Richtigkeit wurde durch Zusatz bekannter Zinkkonzentrationen zum Serum ermittelt. Wiederfindung: 96 - 101 %
- Sensitivität**  
Die theoretische Sensitivität dieser Methode, gemessen in Absorptionen, beträgt am Hitachi® 200 Spektralphotometer bei 560 nm 1110 l/gm · cm für frisches Reagenz.
- Präzision**  
Die Präzision wurde durch wiederholte Messungen verschiedener Seren überprüft. CV % < 2 %.
- Spezifität**  
Die Spezifität des Wako Zinc-Tests ist durch Zugabe potentieller Störsubstanzen überprüft worden. Siehe Tabelle 1

#### Physikalische und chemische Anzeichen von Instabilität

Das Vorhandensein eines Niederschlags im Reagenz oder eine Wiederfindung in Kontrollseren außerhalb des vom Hersteller angegebenen Bereichs sind ein Hinweis auf die Instabilität des Reagenzes.

439-14906  
1217D3

#### Korrelation<sup>2,3</sup>

Probenmaterial	Serum
Korrelationskoeffizient	$r = 0,9228$ (n = 82)
Regressionsgleichung	$y = 0,975 x + 4,35$
y	Wako Zinc 5-Br-PAPS-Methode ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )
x	Atomabsorptionsspektrometrie ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )

#### Interferenzen

Heparin, Citrat, Oxalat als Antikoagulanzen und Bilirubin haben keinen wesentlichen Einfluss auf das Messergebnis.

**Tabelle 1: Serum-Additivstudie beim Zink**

Name	Zusatz		Serum mit Zusatz
	End-Konzentration	Gewöhnliche Menge	Zink-Konzentration ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )
Bilirubin	Kein	-	71,3
	5 (mg/dl)	-	72,5
	10	-	70,5
	15	-	71,9
	20	-	72,5
Hemoglobin	Kein	-	71,3
	200 (mg/dl)	-	77,6
	400	-	85,8
	600	-	92,1
	800	-	97,2
Antikoagulanzen	Kein	-	71,3
	Citrat 2,0 %	0,5 %	72,5
	Heparin 0,1 %	0,01 %	71,3
	Oxalat 2,0 %	0,2 %	72,6
	EDTA 0,5 %	0,1 %	1,9
	NaF 3,0 %	1,0 %	73,8

#### Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für *in vitro*-Bestimmungen.
- Die Anwendung dieses Tests ist ausschließlich ausgebildetem Fachpersonal vorbehalten. Es gelten die einschlägigen nationalen und regionalen Vorschriften und Gesetze.
- Darf beim Menschen oder Tier nicht *in vivo* angewendet werden.
- Die Reagenzien sind ausschließlich für das hier beschriebene Verfahren zu verwenden. Eine Leistung kann nicht garantiert werden, wenn die Reagenzien in anderen Verfahren oder für andere Zwecke eingesetzt werden.
- Reagenzien von Packungen mit verschiedenen Lot-Nummern nicht mischen!
- Das Reagenz ist zur Verwendung auf manuellen oder kommerziell erhältlichen Analysenautomaten vorgesehen. Bei der Gerätebedienung bitte das Benutzerhandbuch des Herstellers beachten!
- Die Erstellung einer klinischen Diagnose darf nur auf der Grundlage klinischer Symptomatik durch einen Arzt erfolgen in Verbindung mit weiteren Testergebnissen.
- Lagerung der Reagenzien unter den angegebenen Bedingungen. Reagenzien nach dem auf der Packung angegebenen Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- Längere Aufbewahrung des angebrochenen Reagenzes wird nicht empfohlen. Nach dem Anbruch bitte wieder gut verschließen und bei der angegebenen Temperatur lagern.
- Alle Probenmaterialien müssen als potentiell infektiös behandelt werden. Der Umgang mit solchem Material sollte in Übereinstimmung mit den Leitlinien guter Laborpraxis und in einer Weise erfolgen, die den geltenden nationalen und internationalen Bestimmungen entspricht.
- Nicht an Mund, Augen, oder Haut bringen! Bei Kontakt mit der Haut oder den Augen umgehend mit viel Wasser spülen. Bei Auftreten einer Hautreizung bitte einen Arzt hinzuziehen.
- Bei Entsorgung der Reagenzien sind die nationalen und örtlichen Vorschriften zu beachten.
- Das Enteiweißungsreagenz (R3) enthält folgende nach Verordnung (EG) Nr.1272/2008 eingestufte Zubereitungen: Trichloressigsäure.

#### Gefahrenpiktogramme



Gefahr

#### Gefahrbestimmende Komponente zur Etikettierung: Trichloressigsäure

##### Gefahrenhinweise:

- Kann gegenüber Metallen korrosiv sein.
- Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.
- Kann die Atemwege reizen.
- Giftig für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.

##### Sicherheitshinweise:

- Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol nicht einatmen.
- Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
- BEI KONTAKT MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle beschmutzten, getränkten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen/duschen.
- BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen.
- Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.
- Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.
- BEI EINATMEN: An die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert.
- Verschüttete Mengen aufnehmen, um Materialschäden zu vermeiden.

Das Farbreagenz A (R1) enthält folgende nach Verordnung (EG) Nr.1272/2008 eingestufte Zubereitungen: Polyoxyethylenlaurylether.

#### Gefahrenpiktogramme



Gefahr

#### Gefahrbestimmende Komponente zur Etikettierung: Polyoxyethylenlaurylether

##### Gefahrenhinweise:

- Verursacht schwere Augenschäden.
- Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.

##### Sicherheitshinweise:

- Nicht in die Augen, auf die Haut oder auf die Kleidung gelangen lassen.
- Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
- BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen.
- Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.
- Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.

#### Qualitätskontrolle

Eine Qualitätskontrollroutine wird allen klinischen Laboratorien empfohlen. Wako Control Serum I und II enthalten Sollwerte für Zink.

Kontrollseren, die für die Zinkbestimmung verwendet werden, dürfen nach der Rekonstitution nicht mehr mit dem Flaschenstopfen verschlossen werden (Zinkkontamination). Parafilm verwenden!

#### Literatur

- Makino, T., Saito, D., Horiguchi, K. Kina: Clin. Chim. Acta 120 : 127 (1982). A highly sensitive colorimetric determination of serum zinc using water-soluble pyridylazo dye.
- Oster, O., Huesgen, G., und Prellwitz, W. Präanalytische und analytische Probleme einer teilmechanisierten photometrischen Serumzinkbestimmung. Ärztl. Lab. 33, 177 - 185 (1987).
- Johnsen, Ø. und Eliasson, R. Evaluation of a commercially available kit for the colorimetric determination of zinc in human seminal plasma. Int. J. Androl. 10, 435 - 440 (1987).
- Kruse-Jarres, J.D.: Zinc (Zn) S. 347 - 349 in Thomas, L., Hsg., Clinical Laboratory Diagnostics. Use and Assessment of Clinical Laboratory Results. Frankfurt/ Main, 1998

#### Bestellinformation

Best.-Nr.	Produkt	Packung	
439-14906	Zinc	R1:	2 x 60 ml
		R2:	1 x 30 ml
		R3:	1 x 30 ml
		CAL:	1 x 10 ml
410-00102	Wako Control Serum I	CONTROL I:	4 x für 5 ml
416-00204	Wako Control Serum II	CONTROL II:	4 x für 5 ml

Hersteller:

**FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH**

Fuggerstr. 12 · 41468 Neuss · Germany

Telephone: +49 2131 311 272 · Fax: +49 2131 311 100

diagnostics\_wkeu@fujifilm.com · [www.wako-chemicals.de](http://www.wako-chemicals.de)

**Wako**