ACID PHOSPHATASE CE

REF 1100005
4 x 10 mL

CONTENIDO
R1.Reactivo 1 x 40 mL
R2. Reactivo 1 x 20 mL
R3. Reactivo 4 x 10 mL
R4. Reactivo 1 x 3 mL

Sólo para uso diagnóstico *in vitro*

FOSFATASA ACIDA

TOTAL Y PROSTATICA
Método colorimétrico
CINETICO

OPTIMIZADA

FUNDAMENTO

El método[1,2] está basado en la hidrólisis del α-Naftil fosfato a pH 5,0 por acción de la fosfatasa ácida (FAC) produciéndose α-naftol y fosfato inorgánico. El pentanodiol actua como aceptor del fosfato aumentando la sensibilidad de la reacción.
El α-naftol reacciona con una sal de diazonio, Fast Red TR*, formándose un complejo coloreado directamente proporcional a la actividad de la FAC presente en la muestra.

$$\alpha\text{-Naftil fosfato} + H_2O \xrightarrow{FAC} \alpha\text{-Naftol} + P_i$$

$$\alpha\text{-Naftol} + \text{Fast Red TR} \xrightarrow[30\text{-}37^oC]{pH\ 5,0} \text{Cromógeno azoico}$$

** 2- Amino-5-clorotolueno diazotado*

La muestra ensayada en presencia de L-tartrato inhibe la fracción ácida prostática de la actividad ácida total.

COMPOSICION DE LOS REACTIVOS

R1 **Tampón citrato**. Citrato sódico 110 mmol/L, 1,5- pentanodiol 220 mmol/L, pH 5,2.

R2 **Tampon citrato/tartrato**. Citrato sódico 110 mmol/L, 1-5-pentanodiol 220 mmol/L, L-tartrato 110 mmol/L pH 5,2.

R3 **Sustrato FAC**. Polvo. α-Naftil fosfato 12,5 mmol/L, Fast Red TR 1,25 mmol/L, una vez reconstituido.

R4 **Estabilizante**. Tampón acetato 5 M/L, pH 5,2.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Conservar a 2-8ºC.
Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Mantener los frascos cerrados, protegidos de la luz y evitar la contaminación durante su uso.

Descartar si se observan signos de deterioro:
- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia del Blanco (A) a 405 > 0,400 en cubeta de 1 cm.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

Reactivo de trabajo. Pipetear 10 mL de **R1** (FAC total) o 10 mL de **R2** (FAC no-prostática) a un vial de **R3**. Tapar y homogeneizar con suavidad hasta su disolución completa. No agitar. El reactivo es estable 10 días a 2-8ºC.

MUESTRAS

Suero claro no hemolizado, separado del coágulo de inmediato. *No usar plasma*. Los oxalatos y el fluoruro sódico inhiben la FAC. La heparina y el EDTA ocasionan turbidez en la muestra.
Para estabilizar el enzima una vez separado el suero del coágulo, añadir 50 µL de **R4** a 1 mL de muestra. Las muestras sin estabilizar no son aptas para el análisis. En sueros estabilizados la actividad FAC es estable unos 4-5 días a 2-8ºC.

INTERFERENCIAS

- Lipemia (intralipid >1,25 g/L) puede afectar los resultados.
- Bilirrubina (>2,5 mg/dL) puede afectar los resultados.
- Hemoglobina puede afectar los resultados.
- Otros medicamentos y sustancias pueden interferir[5-6].

EQUIPO ADICIONAL

- Fotómetro o colorímetro con compartimiento de medición termostatado a 30/37ºC, para leer a 405 nm.
- Cronómetro, registrador gráfico o impresora.
- Cubetas de 1-cm de paso de luz.
- Pipetas de volumen variable para reactivos y muestras.

TECNICA

1. Preincubar el reactivo de trabajo, muestras y controles a la temperatura de reacción.
2. Ajustar a 0 el fotómetro con agua destilada.
3. Para el ensayo de la Fosfatasa ácida Total y/o la No-Prostática pipetear en cubetas rotuladas:

TUBOS	Total	No-Prostática
Reactivo de trabajo **R1**	1,0 mL	-
Reactivo de trabajo R2	-	**1,0 mL**
Muestra o control	100 µL	100 µL

4. Mezclar suavemente por inversión. Insertar la cubeta en el compartimiento termostatado del instrumento y poner el cronómetro en marcha.
5. Incubar durante 5 minutos, y anotar la absorbancia inicial.
6. Repetir las lecturas exactamente a los 1,2 y 3 minutos.
7. Calcular la diferencia entre absorbancias.
8. Calcular el promedio de los resultados para obtener el cambio promedio en absorbancia por minuto (ΔA/min).

CALCULOS

A. ***Fosfatasa Acida Total***

U/L = ΔA/ min x 853

B. ***Fosfatasa Acida No-Prostática***

U/L = ΔA/ min x 853

C. ***Fosfatasa Acida prostática***

A (U/L) – B (U/L) = Fosfatasa Acida Prostática

Muestras con ΔA/min superiores a 0,170 a 405 nm deben diluirse 1:3 con solución salina y repetir el ensayo. Multiplicar los resultados por 3.

Para expresar los resultados en unidades SI aplicar:
U/L x 16,67 = nkat/L

LINEAR CHEMICALS S.L. Joaquim Costa 18 2ª planta. 08390 Montgat, Barcelona, SPAIN
Telf. (+34) 934 694 990 Fax. (+34) 934 693 435. website www.linear.es

VALORES DE REFERENCIA[4]

Suero

Temperatura de reacción	37ºC	30ºC
FAC Total, hasta	6,6 U/L (110 nkat/L)	7,0 U/L (278 nkat/L)
FAC Prostática, hasta	3,5 U/L (108 nkat/L)	2,6 U/L (43 nkat/L)

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de referencia.

CONTROL DE CALIDAD

Para un control de calidad adecuado se incluirán en cada serie controles valorados (normales y elevados) que se tratarán como muestras problema.

REF **1980005** HUMAN MULTISERA NORMAL
Valorado. Nivel normal de fosfatasa ácida.

REF **1985005** HUMAN MULTISERA ABNORMAL
Valorado. Nivel elevado de fosfatasa ácida.

Si los resultados obtenidos se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y la técnica usada.
Cada laboratorio debe establecer su propio Control de Calidad y sus medidas correctoras cuando los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

SIGNIFICADO CLINICO

La determinación de la actividad fosfatásica ácida sérica está dirigida principalmente hacia la medición del enzima prostático, con la finalidad de detectar el cáncer de próstata.
Actividades enzimáticas elevadas, se hallan en los sueros de un 60% de varones con cáncer de próstata con metástasis.
Ligeros aumentos en la actividad enzimática total se observan en casos de fenómenos tromboembólicos, mieloma múltiple, trombocitopenia y enfermedad hepática.
Elevaciones moderadas en la actividad fosfatásica ácida total se dan con frecuencia en la enfermedad de Paget, en el hiperparatiroidismo con implicación esquelética y en presencia de una invasión maligna ósea por cáncer. En estos casos la actividad sérica no se inhibe por el tartrato. La única condición no-ósea en que se hallan las actividades fosfatásicas ácidas elevadas tartrato-resistentes, de tipo osteoclástico en suero, es la enfermedad de Gaucher.

CARACTERISTICAS ANALITICAS

- ***Limite detección:*** 2,74 U/L
- ***Linealidad.*** Hasta 150 U/L
- ***Precisión***

U/L	**Intraserial**		**Interserial**	
Media	28,2	63,6	28,2	63,6
DE	0,40	0,89	1,41	2,85
CV%	1,43	1,41	4,98	4,48
N	10	10	10	10

- ***Sensibilidad.*** 1,3 mA / U/L fosfatasa ácida.
- ***Correlación.*** Este ensayo (y) fue comparado con un método comercial similar (x). Los resultados fueron los siguientes:

  N = 50 r = 0,987 y = 1,078x – 2,166

  Las características analíticas han sido generadas usando un instrumento automático. Los resultados pueden variar según el instrumento utilizado.

NOTAS

1. Este ensayo permite ser adaptado a distintos instrumentos automáticos. Cualquier adaptación a un instrumento deberá ser validada con el fin de demostrar que se cumplen las características analíticas del método. Se recomienda validar periódicamente el instrumento. Consultar con su distribuidor para cualquier dificultad en la adaptación del método.
2. El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

REFERENCIAS

1. Hillmann, G.V. Clin. Chem. Biochem. 9 : 273 (1971).
2. Fabiny-Byrd, DL y Ertinghausen. Clin.Chem 13:841 (1972).
3. Young, D.S., Pestaner, L.D. y Gibberman, V. Clin Chem. 21, Vol. 5, 10-432D (1975).
4. Junge, W. et al. Pecs, Hongrie: 3rd Alpe-Adria Congress on Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 7-9 Septembre 1994.
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.
6. Tietz. N.W. Textbook of Clinical Chemistry, 2th Edition. Burtis CA, Ashwood ER. W.B. Saunders Co. 1994.

B1100-3/0901
R1.cas

LINEAR CHEMICALS S.L. Joaquim Costa 18 2ª planta. 08390 Montgat, Barcelona, SPAIN
Telf. (+34) 934 694 990 Fax. (+34) 934 693 435. website www.linear.es