

Reactivo de Fosfatasa Ácida

Método del alfa naftil fosfato

RESUMEN DEL PRODUCTO

Estabilidad	: 5 días a 2-8°C
Intervalo Lineal	: Hasta 80 U/L
Tipo de muestra	: Suero
Método	: Cinético
Preparación del reactivo	: Añadir un volumen especificado de agua destilada o desionizada.

USO PREVISTO

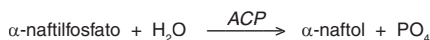
Este reagente se utiliza para la determinación cuantitativa in vitro de la fosfatasa ácida total y prostática del suero humano, tanto en sistemas manuales como automatizados.

RELEVANCIA CLÍNICA

Se encuentran niveles significativos de fosfatasa ácida en el bazo, los eritrocitos, las plaquetas y la glándula prostática. El aumento de la fracción prostática de la fosfatasa ácida se produce como resultado del carcinoma de próstata y el trauma operatorio. El aumento de la fosfatasa ácida total se produce en varias enfermedades hepáticas y óseas, en la enfermedad de Gaucher y la excesiva destrucción de plaquetas¹.

METODOLOGÍA

La fosfatasa ácida (ACP) cataliza la hidrólisis del alfanaftilfosfato, liberando el alfa-naftol y fosfato. Seguidamente el alfa-naftol sufre una reacción de copulación con 4-cloro-2-metilbenceno diazotado (Fast Red TR) para formar un tinte diazoico que presenta una fuerte absorbancia a 405 nm y el aumento de la absorbancia es directamente proporcional al nivel de fosfatasa ácida de la muestra. La adición de L-tartrato inhibe a la fosfatasa ácida prostática, pero no inhibe a otras isoenzimas. La diferencia entre los dos ensayos (fosfatasa ácida total y fosfatasa ácida no prostática) representará el nivel de fosfatasa ácida prostática en suero.²



COMPOSICIÓN DEL REACTIVO

Ingredientes activos

	Concentración
Reactivo A:	
α -naftilfosfato	3 mmol/L
Fast Red TR)	1 mmol/L
Ácido cítrico	20 mmol/L
Citrato sódico	60 mmol/L
pH 5,3 a 20°C	
Reactivo B:	
L-Tartrato sódico	2 mol/L
Reactivo C:	
Tampón de acetato	3 mol/L

AVISO: No ingerir. Evite el contacto con la piel y con los ojos. En caso de contacto, lave abundantemente las áreas afectadas con agua. Añada una gran cantidad de agua antes de verterlo. Para información adicional consulte la Hoja de Datos de Seguridad del reactivo de Fosfatasa Ácida. El envase de este producto contiene caucho natural seco. Tenga precaución al manipular los viales con boca para cápsulas metálicas y los viales de vidrio rotos, dado que los bordes afilados podrían herir al usuario.

Reactivo A:

R41 Riesgo de lesiones oculares graves.
S26 En caso de contacto con los ojos, lávese inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivo A:

Reconstituya el reactivo con el volumen de agua destilada o de agua desionizada indicado en la etiqueta del vial. Mezcle suavemente hasta que se disuelva.

Reactivo B:

Reconstituya el reactivo con el volumen de agua destilada o de agua desionizada indicado en la etiqueta del vial. Mezcle suavemente hasta que se disuelva.

Reactivo C:

La solución estabilizadora se suministra lista para usar.

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

1. Todos los reactivos se deben almacenar refrigerados (2- 8 °C) y se pueden utilizar hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

SÍMBOLOS EN EL ETIQUETADO DEL PRODUCTO

EC REP	Representante autorizado		Limitación de temperatura
IVD	Para uso en diagnósticos in vitro		Usar hasta/Fecha de caducidad
LOT	Código de lote/Número de lote		PRECAUCIÓN. Consulte las instrucciones de uso.
REF	Número de catálogo		Fabricado por
	Consulte las instrucciones de uso		Xi - Irritante
REAG A	Reactivo A	REAG C	Reactivo C
REAG B	Reactivo B		

- El reactivo A reconstituido es estable durante 5 días refrigerado (2-8 °C), cuando se almacena en un vial de ámbar protegido de la luz directa.
- El reactivo B reconstituido es estable durante 90 días si se almacena refrigerado (2-8 °C). En el caso de que el producto cristalice durante el almacenamiento, la solución se puede calentar a 45-55 °C.

Indicios del deterioro del reactivo:

- Turbidez,
- Imposibilidad de obtener los valores de control dentro del intervalo asignado, y/o
- Absorbancia del reagente A >0,3 AU a 405 nm (trayecto de luz de 1 cm).

TOMA Y MANEJO DE LAS MUESTRAS

Suero: Use suero no hemolizado.

Plasma: No recomendado. Los anticoagulantes de oxalato y fluoruro interferirán con el ensayo.

Almacenamiento: La fosfatasa ácida es muy inestable al pH del suero.³ Estabilice la muestra mediante la adición de 0,020 mL de estabilizante (Reactivo C) por cada 1 mL de suero. La actividad enzimática permanecerá estable durante tres días a 2-8°C.

EQUIPOS ADICIONALES NECESARIOS PERO NO PROPORCIONADOS

- Un analizador químico clínico capaz de mantener una temperatura constante (37°C) y de medir la absorbancia a 405 nm.
- Consumibles específicos del analizador, por ejemplo: copas para muestras.
- Agua destilada o desionizada para la preparación de los reactivos y equipos relacionados, por ejemplo: pipetas.
- Material de control de ensayos normales y anormales.

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Se recomiendan los siguientes parámetros del sistema. El Grupo de Soporte Técnico suministra aplicaciones de instrumentos individuales tras solicitud.

PARÁMETROS DEL SISTEMA

Fosfatasa ácida total	
Temperatura	30°/37°C
Longitud de onda primaria	405 nm (405-420 nm)
Longitud de onda secundaria	500 - 650 nm
Tipo de ensayo	Velocidad/cinética
Dirección	Incremento
Muestra: Relación de reactivo	1 : 10
p.ej. Vol de muestra:	0,2 mL
Vol. de reactivo	2,0 mL
Retraso/retardo	5 minutos
Tiempo de lectura	10 minutos
Límites del blanco de reactivo	Bajo 0,0 UA
(405 nm, paso de luz de 1cm)	Alto 0,3 UA
Linealidad	0-80 U/L
(consulte la sección de Linealidad)	
Sensibilidad	1,2 ΔmA/min por U/L
(405 nm, paso de luz de 1cm)	

Fosfatasa ácida no prostática

Temperatura	30°/37°C
Longitud de onda primaria	405 nm (405-420 nm)
Longitud de onda secundaria	500 - 650 nm
Tipo de ensayo	Velocidad/cinética
Dirección	Incremento
Muestra: Relación de reactivo	1 : 10,1
p.ej. Vol de muestra:	0,2 mL
Vol. de reactivo A	2,0 mL
Vol. de reactivo B	0,20 mL
Retraso/retardo	5 minutos
Tiempo de lectura	10 minutos
Límites del blanco de reactivo	Bajo 0,0 UA
(405 nm, paso de luz de 1cm)	Alto 0,3 UA

Linealidad 0-80 U/L
(consulte la sección de Linealidad)
Sensibilidad 1,2 ΔmA/min por U/L
P = (405 nm, paso de luz de 1cm)

CÁLCULOS

Los resultados se calculan, en general, de forma automática por el instrumento, como sigue:

Actividad en U/L = ΔAbs/min x Factor

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

Donde:

TV = Volumen total de reacción en mL
SV = Volumen de la muestra en mL
E = coeficiente de extinción milimolar de la tintura Diazo a 405 nm = 12,9
P = Longitud del paso de la cubeta en cm.

Ejemplo:

- Fosfatasa ácida total (T-ACP):
ΔAbs/min = 0,017
Factor = 853
Fosf ácida = 0,017 x 853 = 14,5 U/l
- Fosfatasa ácida no prostática (N-ACP):
ΔAbs/min = 0,010
Factor = 860
Fosf ácida = 0,010 x 860 = 8,6 U/l
- La fosfatasa ácida prostática se obtiene restando los resultados de la prueba de fosfatasa ácida no prostática de los de la prueba de fosfatasa ácida total de la misma muestra.
ACP prostática (U/l) = T-ACP (U/l) - N-ACP (U/l)
ACP prostática (U/l) = 14,5 - 8,6 = 5,9 U/L

NOTAS

- Los volúmenes del reactivo y de la muestra se pueden alterar de forma proporcional para adaptarse a los diferentes requerimientos del espectrofotómetro.
- Si el cambio en la absorbancia es mayor de 0,1A/min, repita el ensayo con menos muestra o diluya con una disolución salina. Acuérdese de ajustar el factor para el menor volumen de muestra o multiplicar el resultado final por el factor de dilución.
- Los resultados válidos dependen de un instrumento calibrado con precisión, de la distribución, y del control de la temperatura.
- Conversión de unidades: U/L x 16,67 x 10⁻³ = μkat/L

CALIBRACIÓN

No requerida. La velocidad de reacción se convierte a U/L de actividad por medio de un factor de cálculo. Consulte la sección de calibración de este folleto.

CONTROL DE CALIDAD

Para asegurar un control de calidad adecuado, se deberían introducir controles normales y anormales con valores ensayados como muestras desconocidas:-

- Al menos cada ocho horas.
- Cuando se use una nueva botella de reactivo.
- Después de realizar un mantenimiento preventivo o de sustituir un componente crítico.

Los resultados de control que caen fuera de los límites superior o inferior de los intervalos establecidos indican que el ensayo puede estar fuera de control.

En tales situaciones se recomiendan las siguientes acciones correctoras:

- Repetir los mismos controles.
- Si los controles repetidos están fuera de los límites, preparar suero de control fresco y repetir la prueba.
- Si los resultados del material de control fresco aún permanecen fuera de los límites, repita la prueba con reactivo fresco.
- Si los resultados aún están fuera de control, contacte con el Servicio Técnico o con su distribuidor local.

LIMITACIONES

- Evite el uso de muestras hemolizadas.
- Se llevaron a cabo estudios para determinar el nivel de interferencia debida a la bilirrubina en un sistema químico clínico automatizado. Se obtuvieron los siguientes resultados:

Bilirrubina: No se observa interferencia debida a la bilirrubina hasta 68 μmol/L (4 mg/dL).

- Evite el uso de muestras lipémicas.
- Young DS[®] ha publicado una amplia lista de medicamentos y sustancias que pueden interferir con este ensayo.

VALORES ESPERADOS^{1,5}

Insert Spanish translation for Total Acid Phosphatase

A 37°C 0 - 6,0 U/L (0,0 - 0,10 μkat/L)
A 30°C 0 - 4,5 U/L (0,0 - 0,075 μkat/L)

Insert spanish translation for Prostatic Acid Phosphatase

A 37°C 0 - 2,0 U/L (0,0 - 0,03 μkat/L)
A 30°C 0 - 1,5 U/L (0,0 - 0,025 μkat/L)

Los valores indicados son representativos del intervalo esperado para este procedimiento y únicamente deberían servir como guía. Se recomienda que cada laboratorio verifique este intervalo o derive un intervalo de referencia para la población que atiende.⁶

DATOS DE FUNCIONAMIENTO

Los siguientes datos se obtuvieron usando el reactivo de fosfatasa ácida en un analizador químico clínico automatizado con un buen mantenimiento. Los usuarios deberían establecer un comportamiento del producto en su analizador específico usado.

IMPRECISIÓN

Intra análisis	NIVEL I	NIVEL II :
Número de puntos de datos	20	20
Media (U/L)	2,9	24,5
DD	0,24	0,95
CV%	8,3	3,9
Entre días	NIVEL I	NIVEL II :
Número de puntos de datos	20	20
Media (U/L)	3,0	27,7
DD	0,48	0,73
CV%	16,0	2,6

EXACTITUD

Los estudios de comparación se llevaron a cabo usando otro reactivo de fosfatasa ácida similar disponible comercialmente. Se ensayaron las muestras de suero en paralelo y los resultados se compararon mediante una regresión de mínimos cuadrados. Se obtuvieron las siguientes estadísticas:

Fosfatasa ácida total (T-ACP)

Número de pares de muestras	43
Intervalo de los resultados de las muestras	1,3 - 64,0 U/L
Media de los resultados	6,4 U/L
Media de los resultados de la T-ACP	6,4 U/L
Pendiente	1,20
Ordenada en el origen	-1,3 U/L
Coefficiente de correlación	0,999

Fosfatasa ácida no prostática (N-ACP)

Número de pares de muestras	41
Intervalo de los resultados de las muestras	0,1 - 56,0 U/L
Media de los resultados	3,5 U/L
Media de los resultados de la N-ACP	3,5 U/L
Pendiente	1,14
Ordenada en el origen	-0,5 U/L
Coefficiente de correlación	0,999

LINEALIDAD

Cuando se realiza como se recomienda, la prueba es lineal entre 0 - 80 U/L (0,0-1,33 μkat/l). En los instrumentos automatizados, la linealidad depende de la relación entre el volumen de la muestra y el volumen del reactivo usados, así como de la temporización de las mediciones. Debe consultarse la aplicación del instrumento específico.


SENSIBILIDAD

Cuando se realiza según las recomendaciones, la sensibilidad de este ensayo es de 1,2 ΔmA/min por U/L.

BIBLIOGRAFÍA

- 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 Información de Pedidos y Soporte Técnico

	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

	Australia	Internacional	U.S.A.
Teléfono	1800 333 110	61 3 9790 4100	(800) 558 9115
Facsimil	(03) 9790 4155	61 3 9790 4155	(303) 581 6429