

Fosfatasi Acida Reagente

Metodo alfa-naftilfosfato

SOMMARIO DEL PRODOTTO

Stabilità	:	5 giorni a 2-8°C
Intervallo lineare	:	Fino a 80 U/L
Tipo di campione	:	Siero
Metodo	:	Cinetica
Preparazione reagente	:	Aggiunta del volume di acqua distillata o deionizzata specificato.

USO PREVISTO

Questo reagente consente la determinazione quantitativa in vitro della fosfatasi acida totale e prostatica nel siero umano mediante sistemi manuali o automatici.

IMPORTANZA CLINICA

Livelli significativi di fosfatasi acida si riscontrano nella milza, negli eritrociti, nelle piastrine e nella prostata. Il carcinoma della prostata e il trauma operativo causano un aumento della frazione prostatica della fosfatasi acida. Un aumento della fosfatasi acida totale si verifica nel caso di vari disturbi epatici e ossei, della malattia di Gaucher e un'eccessiva distruzione di piastrine.¹

METODOLOGIA

La fosfatasi acida (ACP) catalizza l'idrolisi di alfanaftilfosfato liberando l'alfa-naftolo e fosfato. L'alfa-naftolo è quindi accoppiato con 4-cloro-2-metilbenzene di azotato (TR rosso rapido) per formare un colorante diazo che presenta una forte assorbanza a 405nm e l'aumento dell'assorbanza è direttamente proporzionale al livello di fosfatasi acida nel campione. L'aggiunta di L-tartrato inibisce la fosfatasi acida prostatica ma non gli altri isoenzimi. La differenza tra i due saggi (fosfatasi acida totale e fosfatasi acida non prostatica) sarebbe il livello della fosfatasi acida prostatica nel siero.²



COMPOSIZIONE DEL REAGENTE

Ingredienti attivi

	Concentrazione
Reagente A:	
α -Naftil fosfato	3 mmol/L
TR rosso rapido	1 mmol/L
Acido citrico	20 mmol/L
Citrato di sodio	60 mmol/L
pH 5,3 a 20°C	
Reagente B:	
L-Tartrato sodico	2 mol/L
Reagente C:	
Buffer acetato	3 mol/L

AVVERTENZA: Non ingerire. Evitare il contatto con gli occhi e con la pelle. In caso di versamento, lavare l'area interessata con abbondante acqua. Smaltire con abbondante acqua. Per maggiori informazioni, consultare la documentazione di sicurezza del reagente Fosfatasi Acida. La confezione di questo prodotto contiene gomma naturale solida. Manipolare eventuali fiale di vetro rotte con cautela, in quanto i bordi taglienti possono ferire l'utilizzatore.

Reagente A:

R41 Rischio di gravi lesioni oculari.
S26 In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare un medico.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE

Reagente A:

Ricostituire il reagente con il volume d'acqua distillata o deionizzata indicato sull'etichetta della fiala. Miscelare fino a dissolverlo.

Reagente B:

Ricostituire il reagente con il volume d'acqua distillata o deionizzata indicato sull'etichetta della fiala. Miscelare fino a dissolverlo.

Reagente C:

La soluzione stabilizzante è fornita pronti per l'uso.

STABILITÀ E CONSERVAZIONE

- Tutti i reagenti devono essere conservati in congelatore (2-8°C) e possono essere utilizzati fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta.
- Il reagente ricostituito A è stabile per 5 giorni in congelatore (2-8°C), se conservato in una fiala ambrata al riparo da luce diretta.

SIMBOLI DI ETICHETTATURA PRODOTTO

EC REP	Rappresentante autorizzato		Limite di temperatura
IVD	Per uso diagnostico in vitro		Usare entro/Data di scadenza
LOT	Codice/Numero lotto		AVVERTENZA. Consultare le istruzioni d'uso.
REF	Numero catalogo		Prodotto da
	Consultare le istruzioni d'uso		Xi - Irritante
REAG A	Reagente A	REAG C	Reagente C
REAG B	Reagente B		

- Il reagente ricostituito B è stabile per 90 giorni se conservato refrigerato (2-8°C) La soluzione può essere riscaldata a 45-55° C in caso di cristallizzazione durante la conservazione.

Indicazioni del deterioramento del reagente:

- Torbidità,
- Mancato ripristino dei valori di controllo nell'intervallo assegnato e/o;
- Assorbanza del reagente A >0,3 UA a 405nm (1 cm percorso della luce).

RACCOLTA E MANIPOLAZIONE CAMPIONI

Siero: Utilizzare siero non emolizzato.

Plasma: non consigliato. Gli anticoagulanti di fluoruro e ossalato interferiranno con il saggio.

Conservazione: La fosfatasi acida è molto instabile al pH del siero.³ Stabilizzare il campione aggiungendo 0,020 mL di stabilizzante (Reagente C) per ogni mL di siero. L'attività enzimatica sarà stabile per tre giorni a 2-8°C.

STRUMENTAZIONE AGGIUNTIVA NECESSARIA NON FORNITA

- Un analizzatore chimico clinico in grado di mantenere la temperatura costante (37°C) e misurare l'assorbanza a 405 nm.
- Materiali di consumo specifici per l'analizzatore, ad es.: contenitore campioni.
- Acqua distillata o deionizzata per la preparazione del reagente e relativa strumentazione, ad es.: pipette.
- Materiale di controllo analizzato normale e anormale.

PROCEDURA DI ANALISI

Si consiglia di attenersi ai seguenti parametri di sistema. Singole applicazioni strumentali sono fornite su richiesta dal Gruppo di assistenza tecnica.

PARAMETRI DI SISTEMA

Fosfatasi acida totale

Temperatura	30°/37°C
Lunghezza d'onda primaria	405 nm (405-420 nm)
Lunghezza d'onda secondaria	500 - 650 nm
Tipo di analisi	Velocità/Cinetica
Direzione	Aumento
Campione: Rapporto reagente	1 : 10
ad es. Vol. campione	0,2 mL
Vol. reagente	2,0 mL
Ritardo	5 minuti
Tempo di lettura	10 minuti
Limiti Blank del Reagente	Bassi 0,0 UA
(405nm, 1cm percorso della luce)	Alti 0,3 UA
Linearità	0-80 UI/L
(fare riferimento alla sezione Linearità)	
Sensibilità	1,2ΔmA/min per U/L
(405nm, 1cm percorso della luce)	

Fosfatasi acida non prostatica

Temperatura	30°/37°C
Lunghezza d'onda primaria	405 nm (405-420 nm)
Lunghezza d'onda secondaria	500 - 650 nm
Tipo di analisi	Velocità/Cinetica
Direzione	Aumento
Campione: Rapporto reagente	1 : 10,1
ad es. Vol. campione	0,2 mL
Vol. reagente A	2,0 mL
Vol. reagente B	0,02 mL
Ritardo	5 minuti
Tempo di lettura	10 minuti
Limiti Blank del Reagente	Bassi 0,0 UA
(405nm, 1cm percorso della luce)	Alti 0,3 UA
Linearità	0-80 UI/L
(fare riferimento alla sezione Linearità)	
Sensibilità	1,2ΔmA/min per U/L
(405nm, 1cm percorso della luce)	

CALCOLO

I risultati vengono solitamente calcolati automaticamente dallo strumento come segue:

Attività in U/L = Δ Abs/min x Fattore

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

Dove: TV = Volume di reazione totale in mL
SV = Volume campione in mL
E = coefficiente di estinzione millimolare di colorante Diazo a 405 nm = 12,9
P = Lunghezza di percorso della cuvetta in cm.

Esempio:

- Fosfatasi acida totale (T-ACP):
 Δ Abs/min = 0,017
Fattore = 853
Fosf. acida = $0,017 \times 853 = 14,5$ U/L
- Fosfatasi acida non prostatica (N-ACP):
 Δ Abs/min = 0,010
Fattore = 860
Fosf. acida = $0,010 \times 860 = 8,6$ U/L
- La fosfatasi acida prostatica è ottenuta sottraendo i risultati dell'analisi della fosfatasi acida non prostatica dai risultati dell'analisi della fosfatasi acida totale sullo stesso campione.
ACP prostatica (U/L) = T-ACP (U/L) - N-ACP (U/L)
ACP prostatica (U/L) = $14,5 - 8,6 = 5,9$ U/L

NOTA

- I volumi di reagente e campione possono essere variati in proporzione per adattarsi ai diversi requisiti dello spettrofotometro
- Se la variazione dell'assorbanza è maggiore di 0,1A/min, ripetere l'analisi con quantità inferiore di campione o diluire con soluzione fisiologica. Avere cura di regolare il fattore per il volume campione più piccolo o di moltiplicare il risultato finale per il fattore di diluizione.
- La validità dei risultati dipenderà da una accurata calibratura degli strumenti, la distribuzione dei tempi e il controllo della temperatura.
- Conversione unità: U/L $\times 16,67 \times 10^{-3} = \mu\text{kat/L}$

CALIBRAZIONE

Non necessaria. La velocità di reazione è convertita a U/L di attività mediante un fattore di calcolo. Fare riferimento alla sezione di calcolo di questo inserto.

CONTROLLO QUALITÀ

Per garantire un controllo qualità adeguato si consiglia di effettuare un controllo normale e anormale con valori analizzati come campioni sconosciuti:

- Almeno ogni otto ore.
- Quando si utilizza una nuova bottiglia di reagente.
- In seguito a manutenzione preventiva o sostituzione di un componente critico.

I risultati del controllo non rientranti nei limiti superiore o inferiore degli intervalli stabiliti indicano che il campione potrebbe essere fuori controllo.

In tali situazioni si consiglia di effettuare le seguenti azioni correttive:-

- Ripetere gli stessi controlli.
- Se i risultati dei controlli ripetuti non rientrano nei limiti, preparare del siero di controllo nuovo e ripetere la prova.
- Se i risultati del materiale appena controllato continuano a non rientrare nei limiti, ripetere il test con reagente appena preparato.
- Se i risultati risultano ancora fuori controllo, contattare l'Assistenza tecnica o il distributore locale.

LIMITAZIONI

- Evitare l'uso di campioni emolizzati.
- Sono stati condotti degli studi per determinare il livello di interferenza da bilirubina su un analizzatore automatico di chimica clinica. I risultati ottenuti sono come segue:

Bilirubina: Nessuna interferenza da bilirubina fino a 68 $\mu\text{mol/L}$ (4 mg/dL).

- Evitare l'uso di campioni lipemici.
- Young DS⁴ ha pubblicato un elenco completo dei farmaci e delle sostanze in grado di interferire con questo saggio.

VALORI PREVISTI¹⁻⁵

Fosfatasi acida totale

A 37°C 0 - 6,0 U/L (0,0 - 0,10 $\mu\text{kat/L}$)
A 30°C 0 - 4,5 U/L (0,0 - 0,075 $\mu\text{kat/L}$)

Fosfatasi acida non prostatica

A 37°C 0 - 2,0 U/L (0,0 - 0,03 $\mu\text{kat/L}$)
A 30°C 0 - 1,5 U/L (0,0 - 0,025 $\mu\text{kat/L}$)

I valori indicati sono rappresentativi dell'intervallo previsto per questo metodo e hanno scopo unicamente di guida. Si consiglia ad ogni laboratorio di verificare questo intervallo o di procurare un intervallo di riferimento per la popolazione a cui si riferisce.⁶

PRESTAZIONI

I dati seguenti sono stati ottenuti utilizzando il reagente Fosfatasi Acida su un analizzatore chimico clinico automatico mantenuto in efficienza. Gli utenti dovrebbero stabilire la prestazione del prodotto sui loro analizzatori specifici utilizzati.

IMPRECISIONE

Nel ciclo	LIVELLO I	LIVELLO II
Numero di punti dati	20	20
Media (U/L)	2,9	24,5
SD	0,24	0,95
CV%	8,3	3,9
Tra giorni	LIVELLO I	LIVELLO II
Numero di punti dati	20	20
Media (U/L)	3,0	27,7
SD	0,48	0,73
CV%	16,0	2,6

PRECISIONE

Sono stati condotti degli studi utilizzando un altro reagente fosfatasi acida simile reperibile sul mercato. I campioni di siero sono stati analizzati in parallelo e i risultati confrontati con regressioni al minimo quadrato. Le statistiche ottenute sono come segue.

Fosfatasi acida totale (T-ACP)

Numero di coppie di campioni	43
Intervallo risultati campione	1,3 - 64,0 U/L
Media risultati metodo di rif.	6,4 U/L
Media dei risultati di T-ACP	6,4 U/L
Pendenza	1,20
Intercetta	-1,3 U/L
Coefficiente di correlazione	0,999

Fosfatasi acida non prostatica (N-ACP)

Numero di coppie di campioni	41
Intervallo risultati campione	0,1 - 56,0 U/L
Media risultati metodo di rif.	3,5 U/L
Media dei risultati di N-ACP	3,5 U/L
Pendenza	1,14
Intercetta	-0,5 U/L
Coefficiente di correlazione	0,999

LINEARITÀ

Quando condotto secondo le raccomandazioni, il saggio è lineare tra 0 e 80 U/L (0,0-1,33 $\mu\text{kat/L}$). La linearità sugli strumenti automatici dipenderà dal rapporto del volume campione con il volume del reagente utilizzato e la distribuzione nel tempo delle misurazioni. È necessario consultare l'applicazione specifica dello strumento.


SENSIBILITÀ

Quando condotta secondo le raccomandazioni, la sensibilità dell'analisi è pari a 1,2 $\Delta\text{mA/min}$ per U/L.

RIFERIMENTI

- 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

Dati per nuovi ordini e assistenza tecnica

	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
Telefono	L'Australia 1800 333 110	Internazionale 61 3 9790 4100	U.S.A. (800) 558 9115
Fax	(03) 9790 4155	61 3 9790 4155	(303) 581 6429