

ACID PHOSPHATASE

Prueba colorimétrica - Humazym M Fosfohidrolasa-monoéster ortofosfórico (Fosfatasa ácida optimizada) (EC 3.1.3.2)

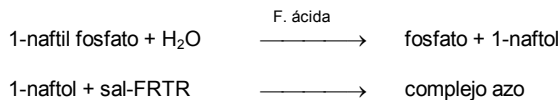
Presentación del estuche

REF ³	12660	16 x 2 ml	Estuche completo
IVD			

Método¹

El sustrato 1-naftil fosfato es hidrolizado por la fosfatasa ácida (F. ácida) a fosfato y 1-naftol, que es convertido con sal-FRTR (véase "contenidos") a un complejo azo. El incremento de la absorbancia a 405 nm es proporcional a la actividad de la fosfatasa ácida total en la muestra. La fosfatasa ácida prostática se puede bloquear por tartrato y determinarse indirectamente (a través de la fosfatasa ácida no-prostática) por cálculo de la diferencia de actividad.

Principio de la reacción



Contenidos

BUF	1 x 32 ml Solución Buffer	
	Buffer citrato (pH 5,2)	100 mmol/l
SUB	16 x 2 ml Substrato (lío-filizado)	
	1-naftil fosfato	19 µmol
	Sal-FTR rojo rápido	2 µmol
	(sal 4-cloro-2-metilfenil diazonio)	
TART	1 x 32 ml Solución de Tartrato	
	Buffer citrato (pH 5,2)	100 mmol/l
	Tartrato	135 mmol/l
STAB	1 x 2 ml Estabilizador	
	Acido acético	0,7 mol/l

Preparación de los reactivos

Reactivo RA (determinación de la **fosfatasa ácida total**)
Disolver el contenido de un frasco de **[SUB]** con exactamente 2 ml de **[BUF]**. Marcar la etiqueta con "RA" y la fecha de preparación.

Reactivo RB

(determinación de la **fosfatasa ácida prostática**)
Disolver el contenido de un frasco de **[SUB]** con 2 ml de **[TART]**.
Marcar la etiqueta con "RB" y la fecha de preparación.

Estabilidad de los reactivos

Sin abrir, los reactivos son estables hasta la fecha de vencimiento cuando se almacenan de 2...8°C.
Después de reconstituido el reactivo de trabajo es estable por 5 días de 2...8°C y por 24 horas de 15...25°C, protegido de la luz.

Muestras

Suero, no plasma!
Evitar la hemólisis!
Sueros ictericos (bilirrubina >3 mg/100 ml) interfieren con la prueba y no deberían ser usados como muestras.

Preparación de las muestras

Estabilizar las muestras por adición de 1 gota de **[STAB]** a 1 ml de suero inmediatamente después de haber tomado la muestra. Estas muestras son estables por 3 días de 2...8°C y 24 horas de 15...25°C.

Ensayo

Longitud de onda: Hg 405 nm
Paso de luz: 1 cm
Temperatura: 25°C, 30°C ó 37°C
Medición: Frente al aire (incremento de la absorbancia).

Procedimiento

Llevar los reactivos de trabajo y cubetas hasta la temperatura deseada (25°C, 30°C ó 37°C). La temperatura debe permanecer constante (±0,5°C) durante el análisis.

Macro

Pipetear directamente a los frascos RA y RB que contienen los reactivos de trabajo:	RA	RB
Muestra	200 µl	200 µl
Mezclar y transferir las soluciones a las cubetas marcadas RA y RB		

Semi-micro

Pipetear en las cubetas:	RA	RB
Muestra	100 µl	100 µl
Reactivo de trabajo RA del frasco RA	1000 µl	-
Reactivo de trabajo RB del frasco RB	-	1000 µl

Macro y semi-micro

Mezclar, leer la absorbancia A_1 después de 5 minutos y al mismo tiempo activar el cronómetro.
Leer la absorbancia A_2 exactamente **3 minutos** después a **30°C** y **37°C** ó después de **5 minutos** a **25°C**.
 $A_2 - A_1 = \Delta A$

Cálculos

Calcular la actividad de la fosfatasa ácida total y la actividad de la fosfatasa ácida prostática en las muestras usando los siguientes factores:

U/l	25°C	30°C ó 37°C
Fosfatasa ácida total		
ΔA del reactivo RA x	149	248
Fosfatasa ácida prostática		
$(\Delta A \text{ reac. RA} - \Delta A \text{ reac. RB})$ x	149	248

Conversión: 1 U/l = 16,67 x 10⁻³ µkat/l; 1 µkat/l = 60 U/l

Características de la ejecución

Linealidad
 $\Delta A > 0,3$ (30°C ó 37°C) resp. $\Delta A > 0,5$ (25°C) ó actividad >74 U/l: diluir 0,1 ml de suero con 0,2 ml de solución salina fisiológica (NaCl 0,9%) y repetir la prueba usando esta dilución. Multiplicar el resultado por 3.
Los datos típicos de ejecución de la prueba pueden ser encontrados en el informe de verificación, accesible vía:
www.human.de/data/gb/vr/en-acp-m.pdf ó
www.human-de.com/data/gb/vr/en-acp-m.pdf

Valores de referencia²

Fosfatasa ácida total			
Temperatura	25°C	30°C	37°C
Hombres hasta (U/l)	3,6	5,0	6,5
Mujeres hasta (U/l)	3,0	4,2	5,5
Fosfatasa ácida prostática			
hasta (U/l)	1,5	2,1	2,6

Control de calidad

Pueden ser empleados todos los sueros con valores de fosfatasa ácida determinados por este método. Nosotros recomendamos usar nuestro suero de control de calidad de origen animal HUMATROL ó de origen humano SERODOS.

Automatización

Este estuche es para el uso manual. Para analizadores automáticos, recomendamos el uso de nuestra **[REF]** 10660.

Literatura

- Hillmann, G., z. Klin. Chem. Klin. Biochem. **9**, 273 (1971)
- Junge, W. *et al.*, Data presented at the 45th National Meeting of the AACC, New York, July 1993
- ISO 15223 Medical devices – Symbols to be used with medical device labels, labelling and information to be supplied.

EN-ACP-M
INF 1266001 E
02-2004-11



Human