

ACID PHOSPHATASE

Análisis colorimétrico – Humazym-Test Fosfohidrolasa-monoéster ortofosfórico (Fosfatasa ácida optimizada) (EC 3.1.3.2)

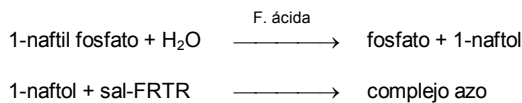
Presentación del estuche

REF	10660	6 x 15 ml	Estuche completo
IVD			

Método¹

El 1-Naftil fosfato es hidrolizado por la fosfatasa ácida (F. ácida) a fosfato y 1-naftol, que es convertido con sal-FRTR (ver "contenidos", **[SUB]**) a un complejo coloreado 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, composición de reactivos en la prueba

[BUF]	1 x 100 ml Solución Buffer Buffer citrato (pH 5,2)	100 mmol/l
[SUB]	6 x 15 ml Sustrato (líoofilizado) 1-naftil fosfato Sal-FRTR (sal 4-cloro-2-metilfenildiazonio)	145 µmol 12 µmol
[TART]	3 x 15 ml Solución Tartrato Buffer citrato (pH 5,2) Tartrato	100 mmol/l 135 mmol/l
[STAB]	1 x 4 ml Estabilizadores Acido acético	0,7 mol/l

Preparación de los reactivos

Reactivo RA (determinación de fosfatasa ácida total)

Disolver el contenido del frasco **[SUB]** con 15 ml de **[BUF]**.
Marcar la etiqueta con "RA".

Reactivo RB (determinación de fosfatasa ácida prostática)

Disolver el contenido del frasco **[SUB]** con exactamente 15 ml de **[TART]**.
Marcar la etiqueta con "RB".

Estabilidad de los reactivos

Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad cuando se almacenan de 2...8°C.
Después de reconstituir los reactivos de trabajo son estables por 5 días de 2...8°C y por 24 horas de 15...25°C **protegidos de la luz**.

Muestras

Suero, no plasma!
Evitar la hemólisis!

Preparación de las muestras

Estabilizar las muestras por adición de una 1 gota de **[STAB]** a 1 ml de suero inmediatamente después de la separación de 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 absorbancia).

Esquema de pipeteo

Llevar los reactivos de trabajo y las cubetas a la temperatura deseada. La temperatura debe permanecer constante ($\pm 0,5^\circ\text{C}$) durante el análisis.

Temperatura del ensayo	25°C/30°C/37°C			
	Semi-micro		Macro	
Ensayo				
Pipetear en las cubetas:	RA	RB	RA	RB
Muestras	100 µl	100 µl	200 µl	200 µl
Reactivo de trabajo RA del frasco RA	1000 µl	—	2000 µl	—
Reactivo de trabajo RB del frasco RB	—	1000 µl	—	2000 µl
Mezclar, leer la absorbancia A₁ después de 5 minutos y al mismo tiempo activar el cronómetro. Leer la absorbancia A₂ exactamente 3 minutos después a 30°C y 37°C , o 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 la muestra usando los siguientes factores:

U/l	Semi-micro / Macro		
Temperatura del ensayo	25°C	30°C ó 37°C	
Fosfatasa ácida total			
ΔA Reactivo RA	x	149	248
Fosfatasa ácida prostática			
$(\Delta A \text{ Reactivo RA} - \Delta A \text{ Reactivo RB})$ x	149	248	

Factor de conversión de las unidades tradicionales (U/l) en unidades SI (kat/l):

$$1 \text{ U/l} = 16,67 \times 10^{-3} \mu\text{kat}; \quad 1 \mu\text{kat/l} = 60 \text{ U/l}$$

Características de la ejecución

Linealidad

Si el cambio de absorbancia excede 0,3 a 30°C ó 37°C ó 0,5 a 25°C, o si la actividad es mayor de 74 U/l, diluir 0,1 ml de muestra con 0,2 ml de solución 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.pdf o
www.human-de.com/data/gb/vr/en-acp.pdf

Valores de referencia²

Fosfatasa ácida total			
Temperatura del ensayo	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 emplearse todos los sueros controles con valores de fosfatasa ácida determinados por este método.

Recomendamos el uso de nuestro suero control de origen animal HUMATROL o nuestro suero de origen humano SERODOS.

Automatización

Proposiciones para la aplicación de los reactivos sobre analizadores están disponibles sobre demanda. Cada laboratorio tiene que validar la aplicación en su propia responsabilidad.

Notas

Sueros ictericos (bilirrubina > 3 mg/100 ml) interfieren en la prueba y no pueden ser usados como muestras.

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

EN-ACP
INF 1066001 E
05-2005-9



Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH
Max-Planck-Ring 21 - D-65205 Wiesbaden - Germany
Telefon: +49 6122 9988 0 - Telefax: +49 6122 9988 100 - eMail: human@human.de