



BIOLABO
www.biolabo.fr

FABRICANTE:
BIOLABO SAS,

Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

FOSFATASAS ACIDAS

Método Punto Final (PNPP)

Reactivo para la determinación cuantitativa de la actividad Fosfatasa Acida Total y Prostática [EC 3.1.2] en suero humano.

REF 3300060

R1	1 x 120 mL	Tampón con Citrato
R2	1 x 60 mL	Tampón con Tartrato
R3	4 x 10 mL	Sustrato
R4	1 x 40 mL	Reactivos Stop
R5	1 x 5 mL	Estabilizador

SOPORTE TECNICO Y PEDIDOS

Tel: (33) 03 23 25 15 50

Fax: (33) 03 23 256 256



CODIGO CNQ: BX

IVD USO IN VITRO

SIGNIFICACION CLINICA (1)

La determinación de la actividad PAP en el suero está casi siempre destinada a valorar la actividad de la isoenzima prostática, no tanto con el propósito de diagnosticar, sino de vigilar y orientar el tratamiento del carcinoma prostático. La elevación de la actividad PAP es variable en función del estadio del cáncer: oscila entre el 11% para el grado A y el 57% para el grado D. La detección precoz del carcinoma prostático se basa más en la determinación del PSA (Prostatic Specific Antigen) y en el examen clínico del paciente. La determinación de la actividad PAP aporta entonces la confirmación y evaluación de un diagnóstico positivo.

PRINCIPIO (4) (5)

Método desarrollado por Fishman y Al, optimizado por Richerich y Al. En un medio ácido, la fosfatasa ácida hidroliza, el p-nitrofenilfosfato (PNPP) en paranitrofenol y fosfato. En presencia de L-Tartrato, solo la Fosfatasa Acida No Prostática (PANP) es activa. La diferencia entre la determinación de la PAT y la de la PANP da la actividad PAP. La reacción se para en medio alcalino.

La aparición de un complejo coloreado, del cual la absorción es proporcional a la actividad fosfatasa ácida, es medida a 405 nm.

REACTIVOS

Vial R1 TAMPON CON CITRATO

Tampón con citrato pH 4,6 64 mmol/L
Conservante

Vial R2 TAMPON CON TARTRATO

Tampón con citrato pH 4,6 64 mmol/L
L-Tartrato 25 mmol/L
Conservante

Vial R3 SUSTRATO

p-Nitrofenilfosfato 30 mmol/L

Vial R4 REACTIVO STOP (irritante)

Hidróxido de sodio 1,0 mol/L
EDTA 20 mmol/L

Xi, R36/37/39: Irritante para los ojos, el sistema respiratorio y la piel.
S36/37/39: Llevar vestimenta de protección, guantes y gafas de protección.

Vial R5 ESTABILIZADOR (corrosivo)

Acido acético a 10% 36,8 mmol/L

C, R35: Corrosivo, puede causar graves quemaduras.
S36/37/39: Llevar vestimenta de protección, guantes y gafas de protección.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

- Los viales R1, R2, R4, R5 están listos para el uso.
 - Vial R3: añadir sin demora al contenido del vial la cantidad de agua desmineralizada indicada en la etiqueta.
- Mezclar suavemente y esperar la disolución completa antes de utilizar el reactivo (aproximadamente 2 minutos).
- Vial R3: Utilizar un objeto no cortante para quitar la cápsula.

PRECAUCIONES

Los reactivos BIOLABO están destinados únicamente a profesionales, para uso in vitro.

- Verificar la integridad de los reactivos antes de su utilización.
- Utilizar equipamientos de protección (bata, guantes, gafas).
- No pipetear con la boca.
- En caso de contacto con la piel o los ojos, enjuagar abundantemente y consultar al médico.
- Los reactivos contiene azida sódica (concentración < 0,1%) que puede reaccionar con metales como el cobre o el plomo de las tuberías. Enjuagar con abundante agua.
- La ficha de datos de seguridad puede obtenerse por petición.
- Eliminación de los deshechos: respetar la legislación en vigor. Por medida de seguridad, tratar toda muestra o reactivo de origen biológico como potencialmente infecciosa. Respetar la legislación en vigor.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Almacenar a 2-8°C protegido de la luz en el vial de origen bien cerrado.

- Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la caja, si están utilizados y conservados en las condiciones adecuadas.
- El sustrato reconstituido (vial R3) es estable por lo menos 30 días en ausencia de contaminación.
- No utilizar el reconstituido después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta
- No utilizar los reactivos si están turbios o si la absorción del blanco reactivo a 405 nm > 0,200 (§ MODO DE EMPLEO).

TOMA Y PREPARACION DE LA MUESTRA (2)

Suero no hemolizado. Separar el suero de las células sanguíneas y analizar rápidamente. Acidificar a pH 5,4-6,2 con 1 gota del vial R5 (Estabilizador) para 1 ml de suero.

La actividad fosfatasa ácida es estable en el suero acidificado durante:

- 7 días a 2-8°C.

INTERFERENCIAS (2) (3)

Los iones oxalato y fluoruro inhiben la actividad Fosfatasa Acida.

Bilirrubina: subvaluación a partir de 30 mg/L.

Hemólisis: sobreestimación de la actividad Fosfatasa Acida.

La actividad Fosfatasa Acida es muy inestable en el suero (pérdida de 50% de la actividad en 8 h en el suero no acidificado).

Young D.S. ha publicado una lista de las sustancias que interfieren con la prueba.

REACTIVOS Y MATERIAL COMPLEMENTARIO

- Equipamiento de base del laboratorio de análisis médico.
- Sueros de control normal y patológico.
- Agua desmineralizada para la reconstitución del reactivo R3.

CALIBRACION

La validez de los resultados depende de la exactitud de la calibración del instrumento, de la justa medida del tiempo, del respeto de la relación volumen reactivo/volumen de la muestra y del control de la temperatura.

- Se recomienda utilizar el factor teórico (§ CALCULO) o utilizar un multicalibrador sérico enzimático trazable sobre una solución o un método de referencia.

CONTROL DE CALIDAD

CODIGO CNQ : BX

- BIOLABO EXATROL-N Tasa I [REF] 95010.
- BIOLABO EXATROL-P Tasa II [REF] 95011.
- Cualquier otro suero de control titulado para este método.
- Programa externo de control de calidad.

Se recomienda controlar en los siguientes casos:

- Al menos un control por rutina.
- Al menos un control cada 24 horas.
- Cambio de vial del reactivo.
- Después de operación de mantenimiento sobre el analizador.

Cuando un valor de control se encuentra fuera de los límites de confianza recomendados, aplicar las siguientes acciones correctivas:

1. Repetir la operación utilizando el mismo control.
2. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, preparar un plasma de control recién reconstituido y repetir el test.
3. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, verificar los parámetros de análisis: longitud de onda, temperatura, volumen muestra/volumen reactivo, tiempo de incubación y factor de calibración.
4. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, utilizar otro vial de reactivo y repetir el test.
5. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, contactar el servicio técnico BIOLABO o el distribuidor local.

INTERVALOS DE REFERENCIA (2)

Método α -naftyl fosfato (2)

Fosfatasa Acida Prostática (30°C o 37°C)

0-0,8 UI/L

0-0,01 μ kat/L

Ver § REFERENCIAS (8)

Fosfatasa Acida Prostática (37°C)

Hombres < 6,6 UI/L

< 0,110 μ kat/L

Mujeres < 6,5 UI/L

< 0,108 μ kat/L

Fosfatasa Acida Prostática (37°C)

Hombres < 3,5 UI/L

< 0,058 μ kat/L

Se recomienda a cada laboratorio definir sus propios valores de referencia para la población estimada.

LIMITE DE LINEALIDAD

La reacción es lineal hasta 80 UI/L (1,33 μ Kat/L).

Si la absorción es > 1,400, diluir la muestra con una solución NaCl a 9 g/L y rehacer la determinación teniendo en cuenta la dilución. El límite de linealidad depende de la relación de dilución muestra/reactivo.

PRESTACIONES

FOSFATASA ACIDA TOTAL

Intra-serie N = 20	Tasa débil	Tasa elevada	Inter-serie N = 40	Tasa débil	Tasa elevada
Media UI/L	9,2	50,4	Media UI/L	8,9	34,1
S.D. UI/L	0,13	0,77	S.D. UI/L	0,35	1,0
C.V. %	1,4	1,5	C.V. %	4	2,9

FOSFATASA ACIDA PROSTATICA

Intra-serie N = 40	Tasa débil	Tasa elevada	Inter-serie N = 40	Tasa débil	Tasa elevada
Media UI/L	3,3	11,8	Media UI/L	3,05	8,55
S.D. UI/L	0,12	0,70	S.D. UI/L	0,16	0,67
C.V. %	3,6	5,9	C.V. %	5,1	7,8

Límite de detección: aproximadamente 0,7 UI/L

Sensibilidad para 1 UI/L (0,017 μ Kat/L):

aproximadamente 0,018 Abs a 405 nm.

MODO DE EMPLEO (TECNICA MANUAL)

Poner los reactivos y muestras a temperatura ambiente.

Para cada suero, medir en 3 tubos de ensayo:	Blanco suero	Prueba 1 (A1)	Prueba 2 (A2)
Vial R1 (Tampón con citrato)	1 mL	1 mL	
Vial R2 (Tampón con tartrato)			1 mL
Suero		100 μ L	100 μ L
Mezclar. Incubar 5 minutos a 30°C ó 37°C Añadir poniendo en marcha un cronómetro:			
Vial R3 (Sustrato)	200 μ L	200 μ L	200 μ L
Mezclar. Incubar exactamente 15 minutos a 30°C ó 37°C. Añadir:			
Vial R4 (Reactivo STOP)	200 μ L	200 μ L	200 μ L
Suero	100 μ L		
Mezclar. Leer las absorbencias A1 (Prueba 1) y A2 (Prueba 2) a 405 nm contra el blanco suero			

Nota:

Blanco Reactivo: hacer un tubo suplementario reemplazando la muestra por agua desmineralizada. Los otros reactivos son añadidos como se indica en la tabla. Esta medida sirve únicamente para validar la calidad del reactivo y no entra en el modo de empleo descrito aquí arriba (§ ESTABILIDAD Y CONSERVACION).

CALCULO

El resultado está determinado según la siguiente fórmula:

Fosfatasa Acida Total:

Con factor teórico:

$$UI/L = A1 \times 54$$

$$\mu\text{kat/L} = A1 \times 0,90$$

Con multicalibrador sérico

$$\text{Actividad PAT} = \frac{A1_{\text{Prueba}}}{A1_{\text{Calibrador}}} \times \text{Concentración del Calibrador}$$

Fosfatasa Acida Prostática:

Con factor teórico:

$$UI/L = (A1 - A2) \times 54$$

$$\mu\text{kat/L} = (A1 - A2) \times 0,90$$

Con multicalibrador sérico

$$\text{Actividad PAP} = \frac{(A1 - A2)_{\text{Prueba}}}{(A1 - A2)_{\text{Calibrador}}} \times \text{Concentración del Calibrador}$$

BIBLIOGRAFIA

- (1) TIETZ N.W. Text book of clinical chemistry, 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p. 711-715
- (2) Clinical Guide to Laboratory Test, 4th Ed., N.W. TIETZ (2006) p. 912-915
- (3) YOUNG D.S., Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests, 4th Ed. (1995) p. 3-498
- (4) FISHMAN W.H. and F.LERNER : J.Biol.Chem.200 : 89 (1952)
- (5) RICHTERICH R., COLOMBO J. P., WEBER H., Schweizerich medizinische Wochenschrift, 92 (1962), p.1496-1500