

FOSFATAZA ACIDA

Numai pentru testarea in vitro
Metoda colorimetrica
CINETIC

CONTINUT

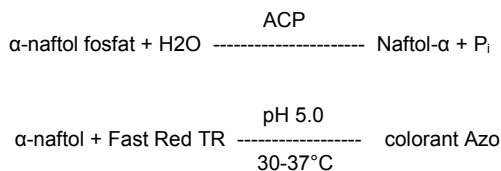
1100005 Fosfataza acida 19 x 2 mL

REF

PRINCIPIUL

Metoda consta in hidrolizarea α -naftil fosfatului de catre fosfataza acida (ACP), intr-un mediu cu un pH de 5.0, pentru a produce α -naftol si fosfat inorganic.

α -naftolul reactioneaza cu Fast Red TR* si produce un complex galben a carui intensitate este direct proportionala cu activitatea ACP-ului din proba.



2-amino-5-clorotoluen diazotizat.

Adaugari de tartrat la proba inhiba fractiunii prostatice a activitatii ACP.

CONSTITUENTI SI COMPOZITIE

R1 ACP buffer. Solutie tampon de citrat 50 mmol/L pH 5.0

R2 ACP substrat. α -naftil fosfat 10 mmol/L, Fast Red TR 6 mmol/L tablete.

R3 Reactiv tartrat. L-Tartrat 2 mmol/L.

DEPOZITARE SI STABILITATE

Se pastreaza la 2-8°C.

Reactivii sunt stabili pana la data de valabilitate scrisa pe eticheta.

PREPARAREA REACTIVULUI

Reactiv de lucru. Adaugati o tableta de **R1** intr-o fiola de **R2**

Nu agitati. Reactivul de lucru este stabil timp de 2 zile la 2-8°C sau timp de 6 ore la 15-30°C. Feriti de lumina.

Aruncati reactivul in cazul in care prezinta un grad de absorbtie de peste 0.300 la 405 nm fata de apa distilata sau in cazul in care valorile declarate ale serului de control nu mai sunt atinse.

PROBE

Ser care nu e turbure, nehemolizat, separat de cheaguri, folositi imediat. Nu se foloseste plasma. Oxalatul sau florura de sodiu inhiba ACP-ul in timp ce heparina si EDTA-ul produc turbiditate in proba.

Pentru a stabili enzima, dupa separarea serului de cheag, adaugati 20 μ L de solutie tampon de acetat 5M la 1 mL de proba.

Probele care nu sunt pastrate astfel nu mai pot fii folosite pentru analiza. Activitatea ACP-ului in serul pastrat este stabila timp de 2 zile la 2-8°C.

INTERFERENTE

- Din cauza continutului bogat de eritrocite in activitatea ACP, probele hemolitice trebuie sa fie evitate.
- Nivelele mari de bilirubina inactiveaza de asemenea ACP-ul din proba
- Probele lipemice (trigliceridele > 5 g/L) nu intervin.

MATERIALE DE LUCRU

- Fotometrul sau spectrofotometru cu celula de citire termostata la 30/37°C, cu citire la 405 nm.
- Pipete pentru masurarea reactivilor si probelor
- Cuvete cu drum optic de 1 cm
- Ceas de laborator

METODA DE LUCRU

1. Preincubati reactivul de lucru, probele si controalele la temperatura de reactie.
2. Setati fotometrul la absorbanta 0 cu apa distilata.
3. Pipetati intr-o cuveta.

TUBURI	ACP-Total	ACP Non-Prostatic
Reactiv de lucru	1.0 mL	1.0 mL
Reactiv tartrat	--	20 μ L
Ser de control	100 μ L	100 μ L

4. Amestecati usor prin inversiune. Introduceti cuveta in celula de citire si dati drumul la ceasul de laborator.
5. Incubati timp de 5 minute si notati citirea absorbantei initiale.
6. Repetati citirea absorbantei exact dupa 1, 2 si 3 minute.
7. Calculati diferenta dintre absorbante.
8. Calculati media rezultatelor pentru a obtine media schimbarilor in absorbanta pe minut ($\Delta A/\text{min}$).

METODA DE CALCUL

A. Fosfataza acida totala

$$U/L = \Delta A/\text{min} \times 853$$

B. Fosfataza acida non-prostatica

$$U/L = \Delta A/\text{min} \times 868$$

C. Fosfataza acida prostatica

$$A (U/L) - B(U/L) = \text{Fosfataza Acida prostatica}$$

Probele cu $\Delta A/\text{min}$ mai mari de 0.100 la 450 nm ar trebui sa fie diluate cu 1 : 3 solutie salina si analizate din nou. Inmultiti rezultatul obtinut cu 3.

In cazul in care rezultatele trebuie sa fie exprimate in SI aplicati formula:

$$U/L \times 16.678 = \mu\text{kat/L}$$

VALORI DE REFERINTA

Ser, plasma

Temperatura de reactie	37°C	30°C
Total ACP, pana la	5.4 U/L (90 nkat/L)	4.3 U/L (72 nkat/L)
ACP prostatic, pana la	1.7 U/L (28 nkat/L)	1.5 U/L (25 nkat/L)

Se recomanda ca fiecare laborator sa-si stabileasca propriile valori de referinta.

CONTROL DE CALITATE

Pentru a asigura un control de calitate adecvat (QC), fiecare set de analize ar trebui sa includa si controalele (normale si anormale), tratate ca probe necunoscute.

- 1980005** MULTISER UMAN NORMAL
NIVELUL RIDICAT DE ACP. ANALIZA
1985005 MULTISER UMAN ANORMAL.
NIVELUL SCAZUT DE ACP. ANALIZA

REF

SEMNFICATIA MEDICALA

Determinarea activitatii fosfatazei acide din ser este orientata catre enzima prostatica si are ca scop detectarea carcinomului de prostata.

S-au observat cresteri ale nivelului de fosfataza acida la aproape 60% dintre pacientii cu cancer cu metastaze la prostata.

Cresteri usoare a nivelului de enzime se poate observa in cazul fenomenului de tromboembolie, mielom multiplu, trombocitopenie si a bolilor de ficat.

Cresteri moderate in activitatea totala a acidului fosfatic apar frecvent in cazul bolii Paget, a hipertiroidismului cu repercusiuni asupra scheletului, si in prezenta invadarii oaselor de catre celulele canceroase maligne. Activitatea serului in aceste cazuri nu este inhibata de tartrat.

Singura situatie ce nu tine de oase este cea in care activitati ridicate de fosfataza acida, cu tartrat rezistent de tip osteoclast , se gasesc in ser in cazul bolii Gaucher

PERFORMANTELE ANALIZEI

- **Linearitate.** Pana la 150 U/L
- **Precizie**

U/L	In timpul analizei*		Intre analize**	
	Mean	SD	Mean	SD
Mean	5.8	26.7	5.8	26.7
SD	0.16	0.13	0.39	0.51
CV%	2.76	1.6	6.7	2.0
N	10	10	5	5

*Replicati: 10 pentru fiecare nivel

Instrument: COBAS MIRA

**Replicati: 5 pentru fiecare nivel timp de 4 zile

- **Sensibilitate.** Folosind acest reactiv si aceasta metoda cu $\Delta A/\text{min}$ de 0.100 reactiv la 405 nm este echivalent cu 4.1 U/L de activitate fosfataza.

- **Corelare:** Aceasta analiza (y) a fost comparata cu o metoda similara comerciala (x). Rezultate obtinute:

$$N = 28 \quad r = 0.999 \quad y = 0.987x + 0.221$$

REFERINTE

- Hillmann GV. Clin. Chem. Biochem. 9 : 273 (1971).
- Young, D.S., Pestaner, L.D. and Gibberman, V. Clin. Chem. 21, Vol. 5, 10-432D (1975).
- Tietz. N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd Edition. W.B. Saunders Co. Philadelphia, PA. (1995).