

Fosfataza acidă

AC 0120 TC

20 x 6 ml

PRINCIPIUL METODEI

Fosfataza acidă (E.C. 3.1.3.2, Orthofosforic-monoster Fosfohidrolaza – acid optimum) eliberează α -Naftol din substratul α -Naftilfosfat, care este cuplat cu Fast Red TR producând un complex ce absoarbe lumina la 405 nm.

Reacția poate fi urmărită fotometric, deoarece reacția de cuplare este instantanee.

L-tartratul inhibă fosfataza acidă prostatică dar nu interferează în mecanismul de reacție. De aceea, dacă testarea este realizată în prezența sau în absența L-tartratului, diferențele între rezultatele celor două determinări este concentrația de fosfatază acidă din ser.

COMPONENTELE TRUSEI

Se va folosi numai pentru diagnostic *in vitro*.

Componentele trusei sunt stabile până la data de expirare indicată pe etichetă.

Se vor păstra departe de orice sursă directă de lumină.

Reactivul A: 20 x 6 ml (pulbere)

Compoziție: α -naftilfosfat 3 mM, citrat de sodiu 60 mM, Fast Red TR 1 mM, pH 5,3.

Reactivul B 1 x 5 ml (pulbere)

Compoziție: sodiu L-tartrat 2 M, acid citric 70 mM, citrat de sodiu 10 mM, pH 5,3.

Reactivul C 1 x 3 ml (lichid)

Tampon acetat 5M, pH 5,0 și stabilizatori.

Componentele trusei se vor depozita la $2 \pm 8^\circ\text{C}$.

MATERIALE NECESARE ȘI NEFURNIZATE

Instrumentația uzuală de laborator. Spectrofotometru UV/VIS cu termostat. Pipete automate. Cuve din material plastic sau sticlă. Soluție salină.

PREPARAREA REACTIVULUI

Reactivul A: Se va reconstitui prin adăugarea a 6 ml de apă deionizată. Se agită circular până la dizolvarea completă.

Stabilitate: 1 zi păstrat la $15 \pm 30^\circ\text{C}$, sau 7 zile păstrat la $2 \pm 8^\circ\text{C}$.

Reactivul B: Se va reconstitui prin adăugarea a 5 ml de apă deionizată. Se agită circular până la dizolvarea completă.

Stabilitate: până la data de expirare indicată pe etichetă, păstrat la $2 \pm 8^\circ\text{C}$.

Dacă apar cristale în interiorul lichidului, acesta se va încălzi ușor până la $40 \pm 50^\circ\text{C}$ până la dizolvarea acestora.

Reactivul C: lichid, gata preparat.

Stabilitate: până la data de expirare indicată pe etichetă, păstrat la $2 \pm 8^\circ\text{C}$.

Stabilitatea flaconului sigilat: până la data de expirare indicată pe etichetă, păstrat la $2 \pm 8^\circ\text{C}$.

PRECAUȚII

Reactivul poate conține unele componente non-reactive și conservanți. Se vor manevra cu atenție și se va evita contactul cu pielea sau înghițirea.

Testele se vor realiza respectând normele "Good Laboratory Practice" (GLP).

PROBE DE LUCRU

Serul proaspăt trebuie separat de cheag în decurs de 2 (două) ore de la recoltare.

Activitatea enzimatică a fosfatazei acide este extrem de labilă la temperatura camerei. Stabilizarea activității enzimatică poate fi efectuată prin acidifiere, adăugând tamponul acetat furnizat (Reactiv C). Se vor adăuga 20 μl din reactivul C la 1 ml de ser proaspăt după care se vor amesteca bine. Serul astfel tratat rămâne stabil timp de 7 (șapte) zile dacă este păstrat la $2 \pm 8^\circ\text{C}$.

Nu se recomandă folosirea plasmei. Unii anticoagulanți inhibă activitatea fosfatazei acide și/sau pot crea turbiditate.

PROCEDURA DE LUCRU PROCEDURA MANUALĂ ACP TOTAL

Lungimea de undă	405 nm
Drumul optic	1 cm
Temperatură	37°C
Se pipetează în cuvă reactivul A:	1000 μl
Se incubează 5 minute la 37°C .	
Se pipetează proba:	100 μl
Se amestecă, se incubează la 37°C , și se realizează o primă citire a absorbantei după 5 minute.	
Se va citi absorbanta de încă 5 ori la intervale de 60 de secunde. Se calculează $\Delta A/\text{min}$.	

PROCEDURA DE LUCRU PROCEDURA MANUALĂ ACP NON PROSTATIC

Lungimea de undă	405 nm
Drumul optic	1 cm
Temperatură	37°C
Se pipetează în cuvă reactivul A:	1000 μl
Se pipetează în cuvă reactivul B:	10 μl
Se incubează 5 minute la 37°C .	
Se pipetează proba:	100 μl
Se amestecă, se incubează la 37°C , și se realizează o primă citire a absorbantei după 5 minute.	
Se va citi absorbanta de încă 5 ori la intervale de 60 de secunde. Se calculează $\Delta A/\text{min}$.	

Fosfataza acidă

AC 0120 TC

20 x 6 ml

CALCULUL REZULTATELOR

Se va realiza calculul în unități per litru, înmulțind $\Delta A/\text{min}$ cu factorul indicat:

FOSFATAZA ACIDĂ TOTALĂ (TOTAL-ACP)

Calculul în U/l: $\Delta A/\text{min} \times 853$
Calculul în $\mu\text{kat/l}$: $U/l \times 0,0167 = \mu\text{kat/l}$

FOSFATAZA ACIDĂ NON-PROSTATICĂ (NP-ACP)

Calculul în U/l: $\Delta A/\text{min} \times 860$
Calculul în $\mu\text{kat/l}$: $U/l \times 0,0167 = \mu\text{kat/l}$

FOSFATAZA ACIDĂ PROSTATICĂ (P-ACP)

(P-ACP) = (TOTAL-ACP) - (NP-ACP)

VALORI LIMITĂ

ACP Total: $< 9,0 \text{ U/L}$ $0,150 \mu\text{kat/l}$
ACP Prostatic: $< 3,0 \text{ U/L}$ $0,050 \mu\text{kat/l}$

CONTROLUL CALITĂȚII ȘI CALIBRAREA

Se recomandă efectuarea unui control intern al calității. Pentru obținerea controlului intern sunt disponibile serurile de control uman:

QN 0050 CH QUANTINORM CHEMA 10 x 5 ml
cu valori de control normale sau apropiate de normal

QP 0050 CH QUANTIPATH CHEMA 10 x 5 ml
cu valori de control patologice.

Dacă este necesar se recomandă utilizarea serului uman de calibrare multiparametric:

AT 0030 CH AUTOCAL H 10 x 3 ml

Pentru mai multe informații vă rugăm a ne contacta.

PERFORMANȚELE TESTULUI

Liniaritate:

metoda își păstrează liniaritatea până la 60 U/L .
Dacă valoarea $\Delta A/\text{min}$ de $0,050$ este depășită, se recomandă a se dilua proba 1 + 9 cu soluție salină și a se repeta testul, înmulțind rezultatul cu 10.

Sensibilitate (Limita de Detecție):

Sensibilitatea este de 1 U/L .

Interferențe:

Concentrațiile ridicate de bilirubină (serurile icterice) inhibă activitatea fosfatazei acide determinate prin acest procedeu. Un număr de medicamente și alte substanțe afectează, de asemenea, activitatea fosfatazei acide. Young și colab. au publicat o listă comprehensivă a acestora.

Precizie:

Între probe (n=20)	media (U/l)	SD (U/l)	CV%
proba 1	8,90	0,70	7,80
proba 2	19,00	1,40	7,50

Intre probe (n=15)	media (U/l)	SD (U/l)	CV%
proba 1	10,20	1,20	11,70
proba 2	20,20	1,50	7,40

Compararea metodelor:

rezultatele comparative între analizele efectuate cu reactivi produși de către Chema Diagnostica și reactivi produși de către alți producători pot fi corelate cu următoarea formulă:

Fosfatază acidă_{Chema} = x
Fosfatază acidă_{concurrentă} = y
n = 22

$y = 0,96x + 0,38 \text{ U/l}$ $r^2 = 0,97$

DEPOZITAREA ȘI EVACUAREA DEȘEURILOR

Acest produs se va folosi doar în laboratoarele autorizate pentru efectuarea de analize medicale.

Se va respecta legislația referitoare la colectarea și depozitarea deșeurilor.

S56: Acest material și ambalajul se vor arunca numai în locurile de colectare a deșeurilor periculoase sau speciale.

S57: Se va utiliza un container corespunzător pentru evitarea contaminării mediului.

S61: Nu se vor deversa deșeurile în mediul înconjurător. Se va respecta legislația referitoare la protecția mediului.

BIBLIOGRAFIE

Bergmeyer, H.V., Methods of Enzymatic analysis, Weinheim, Verlag Chemie, 3rd p.92 (1984).

Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders, p.614 (1976).

Young, D.S., et al, Clin. Chem. 21:No. 5 (1975)

Amador, E. et al, Am. J. Clin. Path. 51:202 (1969).

Hillman, G.Z., Clin. Chem. Klin. Biochem 3:273 (1971).

Fabiny-Byrd, DL., Ertingshausen, G. Clin. Chem. 13:841 (1972).

Ellis, G., et al, J. Clin. Path. 24:493 (1971).

Henry, RJ., Clin. Chem. Prin. and Tech., Hoeber, New York (1964).

Shaw, L.M., et al, Ain.J. Clin.Path. 68:57 (1977).

PRODUCĂTOR

Chema Diagnostica
Via Padre Vincenzo Pellegrini 3
60035 Jesi (AN) - ITALY - EU
telefon: +39 0731 213360
fax: +39 0731 213361
e-mail: mail@chema.com
website: http://www.chema.com