

Fosfatasa ácida

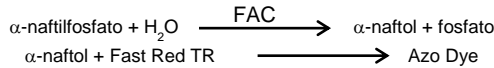
α-Naftil fosfato. Cinético

Determinación cuantitativa de fosfatasa ácida (FAC) IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Método Hillmann: La fosfatasa ácida a pH 5,0 hidroliza el α-naftilfosfato o fosfato inorgánico a α-naftol.



El α-naftol se hace reaccionar con un cromógeno diazotado formando un compuesto coloreado con pico de absorción a 405 nm.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La fosfatasa ácida es una enzima que se encuentra presente en casi todos los tejidos del organismo, siendo particularmente altas en próstata, estómago, hígado, músculo, bazo, eritrocitos y plaquetas.

Niveles elevados de fosfatasa ácida se encuentran en alteraciones prostáticas como hipertrofia, prostatitis o carcinoma, en enfermedades hematológicas, óseas (enfermedad de Paget) o hepáticas.

Niveles bajos de fosfatasa ácida no tiene significado clínico^{1,4,5}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1 Tampón	Citrato sódico pH 5,2	50 mmol/L
R 2 Sustrato	α-Naftil fosfato Fast Red TR	10 mmol/L 6 mmol/L
R 3 Tartrato	Tartrato sódico Hidróxido de sodio	2 mmol/L 1800 mmol/L
R 4	Ácido acético	0,5 mol/L

PRECAUCIONES

R3: H314-Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACIÓN

- Reactivo de trabajo (RT):
Ref: 1001121
Disolver (→) un comprimido de R2 Sustrato en un vial de R1.
Ref.: 1001122
Disolver (→) un comprimido de R2 Sustrato en 15 mL de R1.
Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.
Estabilidad: 2 días a 2-8°C o 6 horas a temperatura ambiente.
- R 3 y R 4: Listo para su uso. (R4 Incluido en Ref:1001121).

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar los comprimidos si aparecen fragmentados.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias del Blanco (A) a 405 nm ≥ 0,44.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 405 nm.
- Baño termostatable a 30°C ó 37°C (± 0,1°C)
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero¹. Usar suero libre de partículas y hemólisis, separado de los hematies lo antes posible. No usar plasma.

La fosfatasa ácida en suero es muy inestable, estabilizar mediante la adición de 50 µL de ácido acético (R4) por cada mL de muestra. Estabilidad: 7 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 405 nm
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura constante: 30°C / 37°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.
- Pipetear en una cubeta:

	FAC Total (T)	FAC No Prostática (No P)
RT (mL)	1,0	1,0
R 3 (µL)	--	10
Muestra (µL)	100	100

- Mezclar, incubar 5 minutos.
- Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronometro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos.
- Calcular el promedio de la diferencia de absorbancia por minuto (ΔA/min).

CÁLCULOS

ΔA/min x 750 = U/L de FAC (T)

750 x (ΔE/min FAC (T) - ΔE/min FAC No inhibida por Tartrato) = U/L de FAC Prostática.

Unidades: La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1 µmol de sustrato por minuto, en condiciones estándar. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA^{4,5}

	30°C	37°C
Fosf. ácida total:		
Hombres	< 4,3 U/L	< 5,4 U/L
Mujeres	< 3,1 U/L	< 4,2 U/L

Fosf. ácida Prostática. < 1,5 U/L < 1,7 U/L

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO (FAC Total)

Rango de medida: Desde el *límite de detección* 0 U/L hasta el *límite de linealidad* 150 U/L.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

Media (U/L)	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
	26,7	57,5	29,3	63,0
SD	0,15	0,19	1,70	2,48
CV (%)	0,58	0,34	5,82	3,94

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,00156 ΔA/min.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales.

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r)²: 0,970510

Ecuación de la recta de regresión: y= 0,82963x + 1,06196

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

La hemólisis interfiere debido a la elevada concentración de fosfatasa ácida presente en los hematies¹.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la fosfatasa ácida^{2,3}.

NOTAS

SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbott L. et al. Acid phosphatase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1079-1083.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref:1001121	R1: 18 x 2 mL, R2: 18 → 2 mL,
	R3: 1 x 1 mL, R4: 1 x 1 mL
Ref:1001122	R1: 1 x 150 mL, R2: 10 → 15 mL ,
	R3: 1 x 2 mL