



Fosfatasa Ácida

Prostática cinética

Método cinético a 405 nm para la determinación de fosfatasa ácida prostática en suero. **Sustrato:** α -naftil fosfato

SIGNIFICACION CLINICA

Las fosfatasa ácidas se encuentran presentes en casi todos los tejidos del organismo, siendo particularmente altas las cantidades de estas enzimas en próstata, estómago, hígado, músculo, bazo, eritrocitos y plaquetas.

Las distintas isoenzimas se diferencian entre sí por su pH óptimo, peso molecular, y requerimientos de activadores e inhibidores.

La fosfatasa ácida prostática (FACP) constituye un valioso auxiliar en el diagnóstico precoz de cáncer prostático, una de las formas neoplásicas de mayor morbilidad.

La determinación cinética de FACP usando α -naftil fosfato como sustrato ha mostrado sensibilidad y especificidad comparables a las técnicas radioinmunológicas, con similar poder discriminatorio y evidentes ventajas de orden práctico.

FUNDAMENTOS DEL METODO

La FACP (E.C.3.1.3.2.) hidroliza el α -naftil fosfato a pH 5,2 con liberación de fosfato y α -naftol. El naftol reacciona a su vez con un diazorreactivo presente en el sistema 4-clorotolueno-1,5-diazo α -naftaléndisulfonato (4-CTD) produciendo un pigmento amarillo, de modo que el aumento de la absorbancia leído a 405 nm es proporcional a la actividad fosfatásica de la muestra.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: comprimidos conteniendo cada uno 6 μ mol de α -naftil fosfato (NF) y 2 μ mol de 4-CTD.

B. Reactivo B: buffer citrato 0,1 mol/l con 14 mmol/l de activador (1,5-pentanodiol + butanol).

Concentraciones finales

NF.....	3 mmol/l
4-CTD	1 mmol/l
buffer citrato.....	0,1 mol/l, pH 5,2

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivo A; preparación: para cada determinación disolver un comprimido de Reactivo A en 2 ml de Reactivo B, agitando suavemente hasta lograr disolución completa.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. La exposición prolongada a temperatura ambiente puede deteriorar el Reactivo A.

Reactivo A reconstituido: estable 24 horas refrigerado (2-10°C) o 12 horas a temperatura ambiente.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Lecturas a 405 nm del Reactivo A reconstituido mayores de 0,250 D.O. leídas contra agua, son indicio de deterioro de los reactivos. En tal caso desechar.

MUESTRA

Suero

a) Recolección: obtener suero libre de hemólisis. No utilizar plasma. La fosfatasa ácida prostática es sumamente inestable "in vitro" y al pH del suero a temperatura ambiente puede perderse hasta un 50% de actividad en pocas horas. Por lo tanto debe separarse el suero del coágulo dentro de una hora de la extracción, conservándolo refrigerado hasta el momento de usar.

b) Aditivos: para evitar la inactivación durante el almacenamiento puede acidificarse la muestra agregando 20 μ l de buffer acetato, 5 M, pH 5 por cada ml de suero. Este conservador se prepara agregando hidróxido de sodio concentrado a 29 ml de ácido acético glacial p.a. hasta obtener pH 5 completando a 100 ml con agua destilada.

c) Sustancias interferentes conocidas:

- sueros con intensa ictericia muestran baja recuperación de la actividad enzimática por lo que su uso debe evitarse.
- no usar sueros con hemólisis visibles.

- los anticoagulantes interfieren en la reacción por lo que no debe emplearse plasma en la determinación.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: si se emplea el conservador descrito en b) la muestra puede conservarse refrigerada (2-10°C) durante varios días sin pérdida significativa de la actividad. De no utilizarse este conservador la muestra deberá procesarse inmediatamente.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.

- Cubetas espectrofotométricas de caras paralelas.
- Cronómetro.

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 405 nm
- Temperatura de reacción: 25, 30 ó 37°C.
- Tiempo de reacción: 4-5 minutos
- Volumen de muestra: 200 ul
- Volumen final de reacción: 2,2 ml

PROCEDIMIENTO

En una cubeta mantenida a la temperatura seleccionada colocar:

Reactivo A reconstituido	2 ml
---------------------------------	------

Preincubar unos minutos. Luego agregar:

Muestra	200 ul
----------------	--------

Disparar simultáneamente un cronómetro. A los 4 minutos registrar la D.O. Leer posteriormente la absorbancia cada minuto durante 3 minutos. Determinar la diferencia promedio de absorbancia/minuto ($\Delta A/\text{min}$) restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Fosfatasa ácida prostática (U/l) = $\Delta A/\text{min} \times 853$
(405 nm; relación muestra/sustrato 1:10)

VALORES DE REFERENCIA

La actividad de FACP es muy escasa en el hombre sano y casi nula en la mujer, de modo que los valores esperados se encuentran en el límite del error instrumental o muy cercanos al límite de detección del sistema. No obstante se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

Temperatura	25°C	30°C	37°C
FACP (U/l)	0 - 2,6	0 - 3,0	0 - 3,5

Debe sospecharse la presencia de cáncer prostático toda vez que los valores superen en un 60% al valor superior normal.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Es sabido que las enzimas son sensibles a la acción de ciertos contaminantes y venenos enzimáticos (metales pesados, cianuros, tensioactivos, etc.) por lo que se recomienda extremar las precauciones en la limpieza del material empleado en la extracción de muestras y en la determinación.
- Los comprimidos (Reactivo A) pueden presentar color rosado, o pequeñas manchas en su superficie que no alteran su reactividad.
- Alteraciones iatrogénicas: existen algunos medicamentos que pueden afectar los valores plasmáticos de FACP, igual que el masaje, cateterismo y otras manipulaciones prostáticas por lo que es conveniente interrogar al paciente o

al médico tratante sobre toda medicación, tratamiento o procedimiento diagnóstico a que esté sujeto el paciente.

PERFORMANCE

a) **Reproducibilidad:** procesando simultáneamente replicas de una misma muestra, se obtuvo lo siguiente:

Nivel	D.S.	C.V.
10 U/l	$\pm 0,51$ U/l	5,1 %
52 U/l	$\pm 0,71$ U/l	1,3 %

b) **Linealidad:** la reacción es lineal hasta 128 U/l ($\Delta A/\text{min} = 0,150$ D.O.). Para valores superiores repetir la determinación con muestra diluida 1:2 ó 1:5 con solución fisiológica, corrigiendo consecuentemente los resultados.

c) **Límite de detección:** depende del fotómetro empleado y de la longitud de onda. De acuerdo con la sensibilidad requerida, en espectrofotómetros con cubetas de caras paralelas de 1 cm de espesor, reproducibilidad ± 2 nm, luz espuria $\leq 0,5\%$ y semiancho de banda ≤ 8 nm, para un $\Delta A/\text{min}$ de 0,001 el mínimo cambio de actividad detectable será de 0,8 U/l.

PRESENTACION

Equipo para 20 determinaciones (Cód. 1351401).

BIBLIOGRAFIA

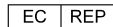
- Hillmann, G.Z. - Klin. Chem. U. Klin. Biochem. 9:273 (1971).
- Babson, A.L.; Read, P.A. and Philips, G.E. - Am. J. Clin. Pathol. 32:83 (1959).
- Fishman, W.H. y Davidsohn, H.M. - Methods of Biochemical Analysis. Ed. by D. Glick, N.Y. Acad. Press pág. 257-284 (1957).
- Roy, A. - Clin. Chem. 17/11:1903 (1971).
- Fishman, W.H. y Lerner, F. - J. Biol. Chem. 200:89 (1953).
- Skelley, D.S. - Ligand Rev. 2/1:43 (1980).
- Shaw, L.M.; Brummund, W. y Dorio, R.J. - Am. J. Clin. Pathol. 68/1:57 (1977).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- Junge, W.; Thormeyer, I.; Schlottmann A. et al - 3rd Alpe-Adria Congress on Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, September 7-9 (1994).

Símbolos

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



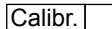
Corrosivo / Cáustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control




Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Disp. N°: 252/75 - 576/00



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina