

FOSFATASI ACIDA

Metodo cinetico Hillman

Kit per la determinazione quantitativa della ACP-T e ACP-NPP nel siero.



IVD Per uso diagnostico in vitro **REF** 3117 - 20x3mL

PRINCIPIO:

La fosfatasi acida (ACP) catalizza, in ambiente acido, l'idrolisi del α -naftilfosfato in α -naftolo e fosfato.

L' α -naftolo reagisce con il diazo 2-cloro-5-toluene (Fast Red TR) e forma un azocomposto con conseguente aumento di assorbanza a 405 nm proporzionale all'attività della fosfatasi acida totale (ACP-T) presente nel campione esaminato.

La fosfatasi acida di origine prostatica è inibita dal tartrato e viene determinata con metodo indiretto per differenza tra la fosfatasi acida totale (ACP-T) e la fosfatasi acida non prostatica (ACP-NPP).

CAMPIONE:

Siero fresco non emolizzato.

La fosfatasi acida è estremamente labile a temperatura ambiente.

Il campione pertanto dovrebbe essere centrifugato immediatamente dopo la coagulazione, e analizzato il più velocemente possibile.

Se il siero verrà analizzato dopo qualche ora, il valore del pH dovrà essere aggiustato a circa 5 con il Tampone acetato (D) incluso nella confezione nel seguente rapporto:

20 μ L di Tampone acetato (D) ogni mL di siero.

Il siero trattato rimane stabile per sette giorni in frigo.

Non usare plasma, alcuni anticoagulanti inibiscono la ACP-T o causano torbidità.

Agitare e portare i campioni a temperatura ambiente prima dell'uso.

REATTIVI:

Reattivo(A) ACP Liquido -Vol. = 3mL	Tampone citrato	50mmol/L
Reattivo(B) ACP Pasticche per 3mL	α - naftilfosfato Fast Red TR	10mmol/L 6mmol/L
Reattivo (C) ACP-NPP Liquido - Vol. = 1mL	L-Tartrato	2mmol/L
Tampone acetato (D) ACP Liquido - Vol. = 1mL	Tampone acetato	5M/L

CONFEZIONE: Conservazione e stabilità

Conservare a temperatura ambiente (+15/25°C).

Stabile fino alla data di scadenza riportata sulla confezione.

Dopo l'apertura e il prelievo del reattivo, si consiglia di richiudere immediatamente il flacone, al fine di evitare contaminazione batterica, **luce diretta** ed evaporazione.

PRECAUZIONI / SIMBOLI DI PERICOLOSITA' :

Non pipettare con la bocca.

Secondo la normativa vigente, i Reattivi (A), (B) e (C) sono classificati: non pericolosi. Il Reattivo (D) invece è classificato:

Xi-Irritante

R36/38-Irritante per gli occhi e la pelle.

S26-In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare un medico.

S37- Usare guanti adatti.

Contiene: Acido Acetico.

La concentrazione totale dei componenti non attivi (conservanti, detergenti, stabilizzanti) è inferiore ai limiti richiesti per la citazione.

Maneggiare il preparato con cautela, secondo le norme di buona pratica di laboratorio, evitando l'ingestione, il contatto con la pelle, gli occhi e le mucose. Tutti i campioni devono essere trattati come materiale potenzialmente infetto da HIV o Epatite.

PREPARAZIONE E STABILITA' DEL REATTIVO DI LAVORO:

I Reattivi liquidi R(A), R(C), R(D) sono limpidi ed incolore.

Sciogliere una pasticca di Reattivo (B) nel flaconcino da 3ml di Reattivo (A). Agitare fino a completa solubilizzazione.

Stabilizzare il reattivo di lavoro 20' prima dell'uso.

Stabilità 2 giorni in frigo e 6 ore a temperatura ambiente.

Non utilizzare la pasticca se appare rotta.

Bianco reattivo a 405nm ≥ 0.440

MATERIALI NECESSARI NON FORNITI:

Strumentazione e attrezzatura generale da laboratorio.

PROCEDIMENTO:

Lunghezza d'onda: 405nm
Cammino ottico: 1 cm
Temperatura: +37°C
Lettura: Contro acqua distillata
Reazione: Cinetica in incremento
Campione/Reattivo: 1/10

Pipettare nella cuvetta :

	ACP-T	ACP-NPP	
Reattivo (A+B)	1000	1000	μ L
Reattivo (C)		10	μ L
Campione	100	100	μ L

Azzerare lo strumento con acqua distillata.

Agitare e trasferire in cuvetta e dopo incubazione di 5' a +37°C.

(T.0''); leggere a 405nm l'estinzione del campione al tempo 0'' e dopo 60'', 120'', 180''.

Se l'attività risulterà superiore a 150UI/L, ripetere l'analisi con siero diluito 1:10 con soluzione fisiologica. Moltiplicare il risultato per 10.

I volumi possono essere variati proporzionalmente.

La presente metodica descrive l'utilizzo del kit in manuale.

Per l'utilizzo con analizzatori, richiedere le applicazioni specifiche.

CALCOLO:

ACP-T: UI/L = Δ Estinzione/min. x 750

ACP-NPP: UI/L = Δ Estinzione/min. x 750

ACP-P: UI/L = ACP-T - ACP-NPP

VALORI DI RIFERIMENTO:

	30°C.	37°C.
ACP-T (Uomini)	<4.3 UI/L	<5.4 UI/L
ACP-T (Donne)	<3.1 UI/L	<4.2 UI/L
ACP-P	<1.5 UI/L	<1.7 UI/L

I valori sopra riportati devono essere considerati indicativi, in quanto si consiglia ad ogni laboratorio di stabilire l'intervallo di riferimento in relazione alla propria area geografica, secondo il protocollo IFCC.

SMALTIMENTO RIFIUTI:

Il prodotto dev'essere smaltito secondo le locali normative in materia di gestione dei rifiuti.

CONTROLLO DI QUALITA':

E' necessario eseguire i controlli ad ogni utilizzo del Kit e verificare che i valori ottenuti siano inclusi nell'intervallo di riferimento riportato nelle istruzioni d'uso.

A tale scopo si consiglia l'utilizzo dei sieri di controllo REF.6000 (Ambito Normale) e REF.6001(Ambito Patologico).

BIBLIOGRAFIA:

- 1)Abbott L. et al. Acid phosphatase, Kaplan A et al. Clin. Chem. the C.V. Mosby Co. St. Louis. Toronto, Princeton 1984; 1079-1083.
- 2)Hillmann G.-Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 1971, 9, 273-274.
- 3)Young, D.S., Effects of Drugs on Clin. Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- 4)Burtis A et al. Tiez Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- 5)Tiez N.W. et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESTAZIONI DEL METODO: (ANALIZZATORE COBAS MIRA)

INTERVALLO DI MISURA/LINEARITA': 0.5-150 UI/L

LIMITE MISURABILE: 0.5 UI/L

SENSIBILITA': 1 UI/L = 0.004 A/min

PRECISIONE NELLA SERIE: n=20

LIVELLO BASSO M=2.56UI/L C.V.=2.90%

LIVELLO MEDIO M=23.7UI/L C.V.=0.95%

PRECISIONE TRA LE SERIE: n=20

LIVELLO BASSO M=2.59UI/L C.V.=2.59%

LIVELLO ALTO M=23.6UI/L C.V.=2.77%

INTER.ANALIZZATO 1.6-32UI/L

CORRELAZIONE r = 0.998 n = 20

REGRESSIONE LIN. y = 0.970x - 0.40 n = 20

INTERFERENZE:(IN ACCORDO RACCOMANDAZIONI SFBC)

L'emolisi interferisce a causa dell'alta concentrazione di ACP presente nei globuli rossi.

LIMITI DEL METODO:

Per concentrazioni superiori a 150 UI/L, ripetere l'analisi su campione diluito 1:10 con fisiologica e moltiplicare il risultato per 10. Per una completa valutazione delle sostanze interferenti vedi il lavoro di: Young, D.S., Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.

