

Determinazione quantitativa del Fosforo inorganico nel siero, plasma, urine. Metodo UV in end point con Phosphomolibdato.

REF CC1270 R1: 4x60 mL + R2:1x3 mL (standard)

PRINCIPIO DEL METODO

In ambiente acido, l'ammonio molibdato reagisce con il fosfato inorganico, dando origine ad ammonio fosfomolibdato la cui assorbanza, misurata fotometricamente a 340 nm, è direttamente proporzionale alla concentrazione del fosforo presente nel campione.

SIGNIFICATO CLINICO

Il Fosforo è presente nel corpo umano come fosfati, sostanze inorganiche delle ossa, ma anche è presente nelle cellule nei fosfolipidi e negli acidi nucleici, come pure nell'ATP (adenosin-tri-fosfato), la moneta del trasferimento energetico biologico. Nel plasma troviamo il Fosforo come Calcio Fosfato per cui i dosaggi di Calcio e Fosforo sono strettamente legati tra loro. La concentrazione del Fosforo ematico aumenta nei disordini renali e delle ghiandole (ossa e paratiroidi), ipo-paratiroidismo. Il livello diminuisce nel malassorbimento, nella deficienza di Vitamina D e nell'iper paratiroidismo. Utile eseguire in contemporanea il dosaggio del Calcio, data la loro correlazione inversa.

COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

Reagente (R1)

Ammonio Molibdato	0,40 mmol/L
Acido Solforico	210 mmol/L
Detergenti	< 2%

Reagente (R2)

Standard (Fosforo) Valore riportato in etichetta

PREPARAZIONE REAGENTI E STABILITA'

Reagenti liquidi e pronti all'uso, stabili fino alla data di scadenza riportata, se conservati come riportato in etichetta e si evitano contaminazione, evaporazioni ed esposizione prolungata alla luce diretta. Non congelare i reagenti. Scartare il reagente se appaiono segni di deterioramento come presenza di particelle e torbidità oppure mancato recupero dei valori di sieri di controllo certificati oppure assorbanza del Bianco Reagente a 340 nm >0.150. Dopo l'apertura dei flaconi, si consiglia di prelevare il volume necessario, di richiudere immediatamente i flaconi e di riporli in frigo al fine di evitare contaminazione, degradazione da luce diretta ed evaporazione.

CAMPIONI

Siero, plasma da eparina, urine delle 24 ore. Non usare plasma da EDTA Evitare campioni emolisati o lipemici. Separare il siero dal coagulo o il plasma dalla massa corpuscolata nel più breve tempo possibile Le Urine delle 24 ore devono essere raccolte aggiungendo 10 mL di Acido Cloridrico a pH 3-4. Il campione di urine deve essere diluito 1:10 (1+9) con acqua distillata prima di essere analizzato.

Stabilità nel siero/plasma:

1 settimana a 4° - 25 °C; 3 mesi a -20°C.

Stabilità nelle urine:

2 giorni a 4° - 25 °C a pH < 5

Eliminare i campioni contaminati.

PROCEDURA

Lunghezza d'onda: 340 nm (334 - 365 nm)
 Temperatura: 37 °C
 Misura: contro acqua distillata

Pipettare come segue:

Reagente R1	1000 µL
Campione, Std / Cal / H ₂ O	10 µL

Miscelare, incubare 5' e leggere l'Assorbanza calibratore / standard e dei campioni entro 60'

CALCOLO

Siero ,Plasma

$$\text{Fosforo} = \frac{\text{Abs Campione} - \text{Abs (Bianco Reagente)}}{\text{Abs Std/Cal} - \text{Abs (Bianco Reagente)}} \times \text{Conc. Std/Calibratore}$$

Urine

Calcolare come per il siero/plasma e moltiplicare il risultato per 10 (diluizione iniziale del campione).

Fosforo (mg/24 h) = Fosforo Urine (mg/dL) x Volume Urine 24 h (dL)
 Fosforo (mmol/24 h) = Fosforo Urine (mmol/L) x Volume Urine 24 h (L)

Fattore di conversione: mg/dL x 0,3229

CALIBRAZIONE

I risultati dipendono dalla accuratezza della calibrazione, dal corretto settaggio del test sullo strumento, dal giusto rapporto volumetrico reagente/campione e dalla corretta temperatura di analisi. In alternativa allo standard chimico presente nella confezione, è possibile usare il Calibratore di **MTD Diagnostics**:

Chemistry Multicalibrator - REF CAL1010 (10 x 3 mL).

CONTROLLO QUALITA'

Sieri di controllo normali e patologici a concentrazione nota, devono essere analizzati regolarmente in ogni seduta analitica.

Utilizzare il materiale di controllo di qualità di MTD Diagnostics:

Chemistry Control N - REF CNN1010

Chemistry Control P - REF CNP1020

VALORI DI RIFERIMENTO BIBLIOGRAFICI

Siero, Plasma

	[mg/dL]	[mmol/L]
Adulti	2,6 - 4,5	84 - 1,45
1 - 30 giorni	3,9 - 7,7	1,25 - 2,50
1 - 12 mesi	3,5 - 6,6	1,15 - 2,15
1 - 12 anni	3,2 - 5,7	1,00 - 1,95
Adolescenti 13-18 anni	2,8 - 5,0	0,85 - 1,60

Urine 24 ore: 400 - 1300 mg/24 ore 123,16-419,17 mmol/24 ore

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire un range di valori attesi in base alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare il proprio intervallo di riferimento. A fini diagnostici, i risultati devono sempre essere

valutati insieme alla storia medica del paziente, all'esame clinico e ad altri risultati.

PRESTAZIONI

PRECISIONE:

Livello basso: Campioni= 20; Media = 2,02; D.S. = 0,03; CV = 1,61%

Livello alto: Campioni= 20; Media = 5,82; D.S. = 0,05; CV = 0,86%

ACCURATEZZA: Una comparazione tra questo metodo (x) ed un metodo certificato del commercio (y) ha dato la seguente correlazione:

$$y=1,016x-0,150 ; r=1,000$$

SENSIBILITA': 0,2 mg/dL

LINEARITA': 0,2- 18 mg/dL

INTERFERENZE E SPECIFICITA'

Nessuna interferenza è stata osservata con Acido Ascorbico fino a 18 mg/dL, Bilirubina fino a 20 mg/dL, Emoglobina fino a 0,15 mg/dL, Lipemia fino a 1.000 mg/dL di Trigliceridi.

NOTE

1. La maggior parte dei detergenti e dei prodotti per addolcire l'acqua utilizzati nei laboratori contengono agenti chelanti e fosfati. Si consiglia di risciacquare la vetreria con acido nitrico diluito e acqua prima dell'uso
2. Questo metodo può essere utilizzato con diversi strumenti. Qualsiasi applicazione a uno strumento deve essere convalidata per dimostrare che i risultati soddisfano le caratteristiche di prestazione del metodo. Si consiglia di convalidare periodicamente lo strumento. Contattare il proprio distributore per qualsiasi domanda sul metodo di applicazione.
3. La diagnosi clinica non dovrebbe essere fatta sui risultati di un singolo risultato del test, ma dovrebbe integrare sia i dati clinici che quelli di laboratorio.

PRECAUZIONI

R1 contiene ACIDO SOLFORICO (H₂SO₄) – 210 mmol/L - CAS 7664-93-9 - C R35 (H314) – Xi R36/37/38 (H319 – H335 – H315)

R35 (H314): Causa severe ustioni

R36/37/38 (H319 – H335 – H315): Irritante per gli occhi, le vie respiratorie e la pelle.

Il prodotto contiene sostanze o miscele pericolose secondo la regolamentazione CE n° 1272/2008 (CLP), pertanto, esso necessita della etichettatura speciale prevista dalla suddetta regolamentazione. Il prodotto è etichettato secondo la direttiva per la marcatura CE (98/79/CE). Sodio Azide inferiore a 0.1%.

Tuttavia, in osservanza alle normali norme di prudenza che ognuno deve osservare allorchè si maneggi qualunque sostanza chimica o reagente di laboratorio, in caso di contatto dei Reagenti con l'operatore, occorre applicare i seguenti interventi di primo soccorso:

S26 (P305 – P351 – P338): In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare il medico.

S28 (P302 – P352): In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente ed abbondantemente.

S36/37/39 (P280): Usare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi/la faccia.

S46 (P301 – P310): In caso d'ingestione consultare immediatamente il medico e mostrargli il contenitore o l'etichetta. Se la vittima è cosciente, lavare la bocca con acqua.

S56 (P273): Smaltire questo materiale e relativi contenitori in un punto di raccolta autorizzato per rifiuti pericolosi o speciali, applicando la legislazione vigente.

S63 (P304 – P340): In caso di incidente per inalazione, allontanare l'infortunato dalla zona contaminata e mantenerlo a riposo.

Tutti i campioni in esame, calibratori e controlli devono essere trattati come materiale potenzialmente infettivo capace di trasmettere HIV ed epatiti.

PER OGNI ALTRA INDICAZIONE, RICHIEDERE LA SCHEDA DI SICUREZZA COMPLETA AL PRODUTTORE.

SIMBOLOGIA

	Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79 CE)		
	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti temperatura di conservazione
	Consultare istruzioni per l'uso		Dimensione / numero test
	Numero di catalogo		Scadenza
	Numero di lotto		Fabbricante

BIBLIOGRAFIA

- Bauer PJ. Affinity and stoichiometry of calcium binding by arsenazo III. *Anal Biochem* 1981;110:61-72.
- Endres DB, Rude RK. Mineral and bone metabolism. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 1395-1457.
- Michaylova V, Ilkova P. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *Anal ChimActa* 1971;53:194-8.
- Thomas L. *Clinical Laboratory Diagnostics*. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 192-202.