

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

REF

CC1272 R1: 3x40 mL + R2: 1x30 mL + R3: 1x3 mL (standard)

PRINCIPIO DEL METODO

Metodo diretto per la determinazione del fosfato inorganico. Il fosfato inorganico reagisce in mezzo acido con il molibdato di ammonio per formare un complesso fosfomolibdato di colore giallo. L'intensità del colore formato è proporzionale alla concentrazione di fosforo inorganico nel campione.

SIGNIFICATO CLINICO

Il fosforo esiste nell'organismo quasi esclusivamente come fosfato, principalmente come sostanza inorganica delle ossa, ma anche nelle cellule dei fosfolipidi e degli acidi nucleici nonché nell'adenosina trifosfato, che è coinvolta nel trasferimento di energia. Nel plasma è presente come fosfato di calcio, quindi il livello di fosforo plasmatico è fortemente associato a quello dei livelli di calcio. La misurazione del fosforo nel siero e nelle urine viene eseguita principalmente per rilevare i disturbi dei reni, delle ossa e delle ghiandole paratiroidi. Concentrazioni aumentate si riscontrano in caso di insufficienza renale, ipoparatiroidismo, pseudoiperparatiroidismo e perdita di fosfato di calcio nelle ossa e nelle cellule. Valori ridotti si verificano in caso di malassorbimento, iperparatiroidismo e carenza di Vitamina D. Ulteriori informazioni possono essere ottenute mediante misurazione supplementare del calcio

COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

Reagent (R1)

H ₂ SO ₄	280 mmol/L	
NaCl		154 mmol/L
Detergent	2%	

Reagent (R2)

H ₂ SO ₄	280 mmol/L	
Ammoniummolybdate		3 mmol/L
NaCl	154 mmol/L	

Reagent (R3)

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 a +2°-8°C, e si evitano contaminazione, e esposizione alla luce. Non congelare i reagenti.

Non congelare i reagenti.

Substrate Start:

I reagenti sono pronti all'uso

Sample Start:

Miscelare 4 parti di R1 + 1 parte di R2
(E.g. 20 mL R1 + 5 mL R2) = Reagente di Lavoro

Stabilità:

8 settimane a +2° to + 8°C

1 giorno a +15° to +25°C

Proteggere la miscela di lavoro dalla luce

Scartare il reagente se appaiono segni di deterioramento:

- presenza di particelle e torbidità

- mancato recupero dei valori di sieri di controllo certificati

CAMPIONI

Siero, plasma da eparina, urine delle 24 ore

Stabilità nel siero/plasma:

- 7 days at 4 - 25°C
- 3 months at -20°C

Stabilità nelle urine:

- 2 giorni a 4° - 25 °C a pH < 5

Eliminare i campioni contaminati.

Per la raccolta delle urine delle 24 ore, aggiungere 10 mL di 10 g / dL di HCl nel flacone di raccolta per evitare la precipitazione di fosfato. Diluire l'urina 1:10 (1 + 9) con acqua distillata prima della determinazione e moltiplicare il risultato per 10.

PROCEDURA

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

Procedura Monoreagente:

Reagente di Lavoro	1000 mL	1000 µL	1000 µL
Campione		10 µL	
Standard			10 µL
Acqua distillata	10 µL		

Mix, incubate for approx. 5 minutes and read the Absorbance against reagent blank within 60 minutes.

Procedura Bi-Reagente:

	BLANK	SAMPLE	CAL/ST
Reagente (R1)	800 µL	800 µL	800 µL
Campione		10 µL	
Standard/R3			10 µL
Acqua distillata	10 µL		
Reagente (R2)	200 µL	200 µL	200 µL

CALCOLO

Siero ,Plasma

Abs Campione

Fosforo = $\frac{\text{Abs Campione}}{\text{Abs Std/Cal}} \times \text{Conc. Std/Calibratore}$

Abs Std/Cal

Urine:

Abs Campione

Fosforo Urinario = $\frac{\text{Abs Campione}}{\text{Abs Std/Cal}} \times \text{Conc. Std/Cal} \times 10$ (Fattore Diluizione)

Abs Std/Cal

Fosforo [mg/24h] = Fosforo Urinario x Volume Urine 24 h (dL)

Fattore di conversione: Fosforo [mg/dL] x 0.3229 = Fosforo [mmol/L]

CALIBRAZIONE

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 10x5 mL (Livello 1)

Chemistry Control P - REF CNP1020 10x5 mL (Livello 2)

VALORI DI RIFERIMENTO BIBLIOGRAFICI

Siero, Plasm

	[mg/dL]	[mmol/L]
Adulti	2,6 – 4,5	0,84 – 1,45
Bambini e Adolescenti		
1 – 30 giorni	3.9 - 7.7	1.25 - 2.50
1 – 12 mesi	3.5 - 6.6	1.15 - 2.15
1 – 3 anni	3.1 - 6.0	1.00 - 1.95
4 – 6 anni	3.3 - 5.6	1.05 - 1.80
7 – 9 anni	3.0 - 5.4	0.95 - 1.75
10 – 12 anni	3.2 - 5.7	1.05 - 1.85
13 – 15 anni	2.9 - 5.1	0.95 - 1.65
16 – 18 anni	2.7 - 4.9	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:

$$y = 0.991 x + 0.007 \quad r = 0.996$$

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
REF	Numero di catalogo		Scadenza
LOT	Numero di lotto		Fabbricante

BIBLIOGRAFIA

Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 241-7.

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.

Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p.1829.