

Uso previsto

Determinazione quantitativa del fosforo inorganico nel siero umano utilizzando gli analizzatori Yumizen C230 e Yumizen C240. **Solo su prescrizione.**

Storia del metodo diagnostico

La misurazione del fosforo inorganico nel siero viene solitamente effettuata formando un complesso di fosfomolibdato e riducendolo a un complesso di colore blu molibdeno. Le metodiche differiscono per la scelta degli agenti riducenti: cloruro stannoso¹, fenilidrazina², acido aminonaftolsolfonico³, acido ascorbico⁴, p-metilaminofenolsolfato⁵, N-fenil-p-fenilendiammina⁶ e solfato ferroso⁷. Questi metodi presentano però instabilità del colore, fasi di deproteinizzazione e complessità di esecuzione⁸. L'aggiunta di un tensioattivo ha eliminato la necessità di preparare un filtrato privo di proteine, ha accelerato la produzione del colore, lo ha stabilizzato e ha semplificato la procedura. Molti dei componenti di questi reagenti erano instabili e dovevano essere conservati separatamente. La misurazione quantitativa dei complessi fosfomolibdati non ridotti è stata descritta per la prima volta da Simonsen nel 1946.⁹ Nel 1972 Daly ed Ertingshausen¹⁰ adattarono questa tecnica alla determinazione del fosforo inorganico. Nello stesso anno Amador e Urban¹¹ hanno ulteriormente modificato la procedura. Il metodo qui presentato è una modifica della procedura sopra descritta che utilizza un singolo reagente stabile che opera nell'intervallo UV.

Principio

Fosforo + H₂SO₄ + molibdato di ammonio → complesso fosfomolibdato non ridotto

Il fosforo inorganico reagisce con il molibdato di ammonio in ambiente acido, formando un complesso fosfomolibdato che assorbe la luce a 340 nm. L'assorbanza a questa lunghezza d'onda è direttamente proporzionale alla quantità di fosforo inorganico presente nel campione.

Reagenti

Molibdato di ammonio 0,48 mM, acido solforico 220 mM con tensioattivo

Precauzioni

1. Il reagente è destinato esclusivamente a fini diagnostici *in vitro*.
2. Questo reagente è un acido ed è caustico. Evitare il contatto con la pelle. In caso di contatto, sciacquare con abbondante acqua. **NON PIPETTARE PER BOCCA.**

Preparazione dei reagenti

I reagenti vengono forniti pronti per l'uso.

Conservazione dei reagenti

Conservare i reagenti in frigorifero ambiente (2-8°C). Se conservati seguendo le raccomandazioni, i reagenti sono stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta.

Deterioramento dei reagenti

Non utilizzare il reagente se:

1. La lettura dell'assorbanza del reagente in acqua è superiore a 0,500 a 340 nm.
2. Il reagente non raggiunge i valori di controllo indicati.

Raccolta e conservazione dei campioni

1. I campioni devono preferibilmente contenere siero non emolizzato.
2. Non utilizzare il plasma perché gli anticoagulanti possono produrre valori falsamente bassi.¹²
3. Un campione emolizzato può dare valori falsamente elevati.
4. È necessario rimuovere tempestivamente il siero dal coagulo di globuli rossi.¹³
5. Il fosforo inorganico del siero resta stabile per una settimana se refrigerato e per tre settimane se congelato.^{13,14}

Interferenze

Per un elenco completo delle sostanze che interferiscono con la misurazione del fosforo inorganico, si rimanda a Young, et al.¹⁵

Materiali in dotazione

Reagente per fosforo inorganico

Materiali necessari non in dotazione

1. Analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240
2. Manuale utente per gli analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240
3. Calibratore chimico Pointe, numero di catalogo C7506-50
4. Controllo chimico Pointe, numero di catalogo C7592-100

Parametri di analisi

Analisi:	PHOS	Sostanza chim.: Fosforo
N. chim:	227	Nome etichetta: PHOS
Tipo reazione:	Endpoint	Direzione reazione: positiva
Lungh. d'onda prim.:	340 nm	Lungh. d'onda sec.
Decimale:	0,1	Tipo campione: siero
T. bianco:		T. reazione: 7 8
Unità:	mg/dl	T. incubazione: 0

Vol. campione	Aspirato	Diluyente	Vol. reagente	Diluyente
Standard; 2	ul	ul	200 ul	u
Decremento;	ul	ul	ul	
Incremento:	ul	ul	ul	

Intervallo linearità (standard);	0-12	Limite linearità:	
Intervallo linearità (decremento):		Esaurim. substrato:	
Intervallo linearità (incremento):		Assorb. bianco mix:	- 40000 40000
Assorb. bianco R1:	- 40000 40000	Stabilità in macchina:	30 Giorno/i
Risposta bianco	- 40000 40000	Limite allarme reagente :	5
Doppia chim.:			

Controllo eff. prozona:		
Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Risultato qualitativo:	
Intervallo:	Val. fuori norma:

Pendenza Offset:			
Pendenza	Offset	Unità	
1	0	mg/dL	

Tratt. preliminare:	
Vol. campione pretratt.:	Vol. reagente pretratt.:
ul	ul

Intervallo rif.:					
Tipo campione:	Sesso:	Intervallo età:	Intervallo rif.:	Intervallo critico:	Unità:

Kit reagenti (UV) Fosforo inorganico Pointe

Parametri di configurazione della calibrazione

Analisi chim.	PHOS	Calibratore	Conc.	Pos.	N. lotto:
Impostazioni calibr.		acqua	0,0	W	
Modello mat.:	Lineare a 2	Cal. chim.	*	*	
punti					
	Fattore: Repliche: 2				
Limiti accettabilità					
T. calibr.:	336 h				
Diff. pendenza:	DS:				
Sensibilità:	Ripetibilità:				*Def. utente
Coeff. deter.:					
Calibr. autom.					
	T. calibr.				

Calibrazione

Utilizzare un calibratore per siero con tracciabilità NIST. La procedura va calibrata seguendo le istruzioni del produttore dello strumento. Se i risultati del controllo risultano fuori range, sarà necessario effettuare una ricalibrazione.

Controllo qualità

La bontà della reazione va monitorata utilizzando sieri di controllo normali e patologici con concentrazioni note di fosforo inorganico. Il controllo qualità richiesto va eseguito in conformità con le normative locali, statali e/o federali o ai requisiti di accreditamento.

Calcolo (esempio)

abs. = assorbanza

$\text{abs. camp.} \times \text{conc.} = \text{fosforo inorganico (mg/dl)}$

abs. std. standard

Esempio: abs. camp.= 0,20; abs. standard = 0,29; conc. standard = 5 mg/dl

Allora: $\frac{0,20}{0,29} \times 5 = 3,4 \text{ mg/dl}$

Unità del SI

Per avere risultati espressi in unità del SI (mmol/L), moltiplicare i valori in mg/dl per 0,323.

Esempio: $3,4 \text{ mg/dl} \times 0,323 = 1,09 \text{ mmol/L}$.

Limitazioni

Non utilizzare detergenti contenenti fosfati per la pulizia della vetreria utilizzata in questa procedura.

Valori attesi

Adulti: 2,5-4,8mg/dl¹⁶

Bambini: 4,0-7,0mg/dl¹⁷

I valori diminuiscono durante il periodo mestruale e dopo i pasti.¹⁷

Si raccomanda che ogni laboratorio definisca il proprio intervallo di normalità.

Prestazioni

- Linearità: 12 mg/dl
- Comparazione: È stato condotto uno studio comparativo tra l'impiego dell'analizzatore Yumizen serie 200 e di un analizzatore simile per l'applicazione del metodo. Si è ottenuto un coefficiente di correlazione di 0,994 e l'equazione di regressione: $y = 0,902x + 0,07$ (n=37).
- Precisione: gli studi sulla precisione sono stati condotti applicando una modifica delle linee guida contenute nel documento EP5-T2 dell'istituto NCCLS e utilizzando un analizzatore Yumizen serie 200.¹⁸

Intra saggio			Inter-saggio		
Media	D.S.	C.V.%	Media	D.S.	C.V.%
3,21	0,12	3,8	3,54	0,07	1,98
7,17	0,21	3,0	7,99	0,20	2,50

Riferimenti bibliografici

- Osmond, M.F., Bull. Soc. Chim. 47:745 (1887).
- Taylor, A.E., Miller, C.W., J. Biol., Chem 18:215 (1914).
- Fiske, C.H., Subbarow, Y., J. Biol. Chem. 66:275 (1925).
- Lowry, O.H., Lopez, J.A., J. Biol. Chem. 162:421 (1946).
- Power, M.H., Standard Methods of Clinical Chemistry New York, Academic Press, (1953).
- Dryer, R.L., et al, J. Biol. Chem. 225:177 (1957).
- Tausky, H.H., Shorr, E., J. Biol. Chem. 202:675 (1953).
- Martinek, R.G., J. Am. Med. Tech. 32:337 (1970).
- Dryer, R.L., et al, J. Biol. Chem. 166:747 (1946).
- Fabiny, D.L., Ertingshausen, G., Clin. Chem. 18:263 (1972).
- Amador, E., Wacker, W., Clin. Chem. 18:601 (1972).
- Goldenberg, H. Fernandez, A. Clin. Chem. 12:871 (1966).
- Henry, R.J., et al, Clinical Chemistry: Principles and Technics, New York, Harper & Row, pp.122:143 (1964).
- Hansk, A., Kao, J., Clin. Chem. 14:58 (1968).
- Young, D.S., et al, Clin. Chem., 21:1D, (1975).
- Henry, R.J., et al, Clinical Chemistry: Principles and Technics, 2nd Ed., Hagerstown (MD), Harper & Row, p.728 (1974).
- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders, p.917 (1976).
- Documento NCCLS "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

Legenda

Utilizzare entro (aaaa-mm-gg)	LOT Codice lotto e gruppo
REF N. catalogo	F Fabbricante
IVD Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>	L Limiti di temperatura
i Consultare il manuale utente	Rx Only: utilizzare solo su prescrizione
CE Marchio CE	EC REP Rappresentante autorizzato per la Comunità Europea

REF 12-P7516-160 Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand 5449 Research Drive Canton, MI 48188 **IVD**

Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Rappresentante autorizzato per l'Europa:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Bruxelles, BELGIO

tel: (32)2.732.59.54 fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



Reagenti certificati

I reagenti Pointe sono certificati per essere stati prodotti conformemente ai parametri specificati. Se entro la data di scadenza un reagente Pointe dovesse risultare non conforme alle specifiche, sarà prontamente sostituito senza alcun addebito.