

FOSFORO UV

Metodo ammonio molibdato
Reagente liquido pronto all'uso



REF. 0031 2x100 ml
REF. 0039 4x100 ml

COMPANY WITH
QUALITY SYSTEM
ISO 9001 - ISO 13485
Certified by IMQ

GIESSE[®]
DIAGNOSTICS

USO PREVISTO

Determinazione quantitativa del fosforo nel siero, nel plasma e nell'urina.

PRINCIPIO

Gli ioni fosfato, reagiscono con l'ammonio molibdato per formare un complesso fosfomolibdato la cui assorbanza a 340 nm è proporzionale alla concentrazione di fosforo presente nel campione.
Il pH acido è necessario alla formazione del complesso.

CAMPIONE

Il siero è il campione preferibile. Anche se il plasma eparinato è accettabile, i livelli di fosforo inorganico sono circa 0.2 – 0.3 mg/dl inferiori che nel siero.

Gli anticoagulanti come il citrato, l'ossalato e l'EDTA interferiscono con la formazione del complesso fosfomolibdato e non dovrebbero essere usati. E' molto importante separare rapidamente il siero o il plasma dagli eritrociti.

I campioni emolizzati sono inaccettabili, considerato l'alto contenuto di fosforo organico degli eritrociti che può essere idrolizzato a fosforo inorganico durante la conservazione; il fosforo inorganico aumenta 4-5 mg/dl al giorno nei campioni emolizzati conservati a 2-8 °C.

Il fosforo può essere considerato stabile diversi giorni nel campione separato dalle cellule e conservato a 2-8 °C o per mesi se congelato.

I campioni di urina prevedono l'aggiunta di 20-30 ml di HCl 6M per ogni campione delle 24 ore, allo scopo di evitare la precipitazione di fosfati complessi.

Diluire le urine 1:10 con acqua distillata prima del test.

COMPONENTI FORNITI

Reagente (A) Volume = 100/250 ml	Ammonio molibdato Acido Cloridrico	0.5 mmol/l 150 mmol/l
Standard Volume = 10 ml	Fosforo Sodio azide	Valore in etichetta 4 mmol/l

I reagenti sono stabili fino alla data di scadenza indicata in etichetta se conservati a 2-8°C, al buio. Non usare dopo la data di scadenza.

Una volta aperti, i reagenti sono stabili 2 mesi a 2-8°C, al riparo dalla luce, in assenza di contaminazioni. Non congelare.

Conservare i flaconi chiusi quando non in uso.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE

Reagente liquido, da portare a temperatura ambiente (15-25°C) prima dell'uso.

Una colorazione gialla (con O.D. > 0.100) indica che il reagente è inquinato.

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

Il reagente può contenere componenti non reattivi e conservanti di varia natura. A scopo cautelativo è opportuno evitare il contatto con la pelle e l'ingestione. Utilizzare le normali precauzioni previste in laboratorio.
Smaltire i rifiuti secondo le norme locali vigenti.

PROCEDIMENTO

Lunghezza d'onda:	340 nm
Cammino ottico:	1 cm
Temperatura:	25, 30, 37°C
Lettura:	contro bianco reagente
Metodo:	End Point in incremento
Campione/Reagente:	1/100

pipettare:	bianco	campione	standard
Reagente (A)	1000 µl	1000 µl	1000 µl
acqua	10 µl		
campione		10 µl	
standard			10 µl

Agitare, incubare a 25, 30, 37 °C per 5 minuti, leggere contro bianco reagente l'assorbanza del campione (Ax) e dello standard (As).

I volumi di reazione possono essere variati proporzionalmente.

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

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

CALCOLO DEI RISULTATI

Siero/plasma:

$Fosforomg/dl = Ax/As \times (\text{valore dello standard})$

Urine delle 24 ore:

$Fosforo mg/24h = Ax/As \times \text{Valore Std} \times 10 (\text{diluizione}) \times \text{Volume urine (dl)}$

Fattore di conversione: $mg/dl \times 0.323 = mmol/l$

INTERVALLI DI RIFERIMENTO

Siero/plasma

Adulti:	2.5 – 4.5 mg/dl	(0.81 – 1.45 mmol/l)
Bambini:	4.0 – 7.0 mg/dl	(1.29 – 2.26 mmol/l)

Urina

Adulti: 400 – 1300 mg/24h (12.9 – 42.2 mmol/24h)

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire gli intervalli di riferimento in relazione alla propria popolazione

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'uso dei sieri di controllo: PRECISENORM (REF. 6000) e PRECISEPATH (REF.6001).

PRESTAZIONI DEL METODO

Sensibilità: la sensibilità del metodo è: 0.3mg/dl.

Linearità: il metodo è lineare fino a 20mg/dl. Per valori superiori, diluire i campioni 1:2 con soluzione fisiologica e moltiplicare il risultato per 2.

Precisione nella serie:

	Livello 1	Livello 2
Media (g/dl)	4.08	7.10
DS	0.16	0.13
CV %	3.92	1.83

Precisione tra le serie:

	Livello 1	Livello 2
Media (g/dl)	4.07	6.81
DS	0.09	0.15
CV %	2.21	2.20

Interferenze: i trigliceridi non interferiscono fino ad una concentrazione di 500 mg/dl. Il glucosio fino a 600 mg/dl non interferisce. L'albumina non interferisce fino a 20 g/dl. La bilirubina in concentrazione uguale o superiore a 12 mg/dl interferisce. L'emoglobina da 0.15 g/dl interferisce. Emoglobina e bilirubina alle concentrazioni suddette comportano un aumento del fosforo inorganico di circa il 10%.

Correlazione con metodo di riferimento:

$Y = 0.9843x + 0.0742 \quad r = 0.9986$

BIBLIOGRAFIA

1. Vassault, A. et al. Ann. Biol. Clin., 44,686 (1986).
2. Young, D.S., et al., Clin. Chem. 21:1D (1975).
3. Yee H. Y., Clin. Chem. 14, 898 (1968).
4. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2th Edition, Burtis-Ashwood (1994).

PHOSPHORUS UV

Ammonium molybdate method

Liquid Reagent ready to use

REF. 0031 2x100 ml
REF. 0039 4x100 ml



COMPANY WITH
QUALITY SYSTEM
ISO 9001 - ISO 13485
Certified by IMQ

GIESSE[®]
DIAGNOSTICS

INTENDED USE

Quantitative determination of phosphorus in serum, plasma, urine.

PRINCIPLE

The phosphate ions react with ammonium molybdate to form a phosphomolybdate complex whose absorbance at 340 nm is proportional to the phosphorus quantity in the sample.

An acid pH is necessary for the formation of complexes.

SAMPLE

Serum is the preferred specimen. Although heparinized plasma is acceptable, levels of inorganic phosphate are about 0.2 to 0.3 mg/dl lower than in serum.

Anticoagulants such as citrate, oxalate, and EDTA interfere with formation of the phosphomolybdate complex and should not be used.

It is important to promptly separate serum or plasma from erythrocytes. Hemolyzed specimens are unacceptable because erythrocytes contain high concentrations of organic phosphate esters, which can be hydrolyzed to inorganic phosphate during storage. Inorganic phosphate increases by 4 to 5 mg/dl per day in hemolyzed specimens stored at 2-8 °C.

Phosphate is considered to be stable in serum that has been separated from the clot for days at 2-8 °C and months when frozen.

Urine samples should be collected in 6 mol/l HCl, 20-30 ml for a 24 hours specimen, to avoid precipitation of phosphate complexes.

Dilute urine samples 1:10 with distilled water before assay.

KIT COMPONENTS

Reagent (A) Vol = 100/250 ml	Ammonium molybdate Chloridric acid	0.5 mmol/l 150 mmol/l
Standard Vol = 10 ml	Phosphorus Sodium azide	Value on label 4 mmol/l

The reagents are stable until the expiration date indicated on the label if stored at 2-8°C and protected from light. Do not use over expiry date.

Once opened reagents are stable for 2 months at 2-8°C if contamination is avoided. Do not freeze. Keep bottles closed when not in use.

REAGENT PREPARATION

Liquid Reagent, bring to room temperature (15-25°C) before use.

A yellow color (O.D. > 0.100) indicates that the reagent is contaminated.

PRECAUTIONS AND WARNINGS

Reagent may contain some non-reactive and preservative components. It is suggested to handle carefully it, avoiding contact with skin and swallow.

Use the normal precautions required in the laboratory.

Dispose of waste according to local laws.

PROCEDURE

Wavelength:	340 nm
Lightpath :	1 cm
Temperature:	25, 30, 37°C
Reading:	against blank reagent
Method:	Increasing End Point
Sample/Reagent:	1/100

pipette:	blank	sample	standard
Reagent (A)	1000 µl	1000 µl	1000 µl
water	10 µl		
sample		10 µl	
standard			10 µl

Mix, incubate at 25, 30, 37 °C for 5 minutes, read against blank reagent the absorbance of the sample (Ax) and the standard (As).

Reaction volumes can be proportionally varied.

This method describes the manual procedure to use the kit.

For automated procedure, ask for specific applications.

RESULTS CALCULATION

Serum/plasma:

Phosphorus mg/dl = $A_x/A_s \times (\text{standard Value})$

24 hours Urine:

Phosphorus mg/24h = $A_x/A_s \times \text{Std Value} \times 10 (\text{dilution}) \times \text{urine Volume}(\text{dl})$

Conversion factor: $\text{mg/dl} \times 0.323 = \text{mmol/l}$

EXPECTED VALUES

Serum/plasma

Adults: 2.5 – 4.5 mg/dl (0.81 – 1.45 mmol/l)
Children: 4.0 – 7.0 mg/dl (1.29 – 2.26 mmol/l)

Urine

Adults: 400 – 1300 mg/24h (12.9 – 42.2 mmol/24h)

Each laboratory should establish appropriate reference intervals related to its population.

QUALITY CONTROL

You must perform the controls at each kit's use and verify that the values obtained are within the reference range reported in the operating instructions. For this purpose we recommend the use of control sera: PRECISENORM (REF.6000) and PRECISEPATH (REF.6001).

PERFORMANCE

Sensitivity: the sensitivity of the method is: 0.3 mg/dl.

Linearity: the method is linear up to 20 mg/dl. For higher values, dilute the sample 1:2 and multiply the result by 2.

Precision intra-assay:

	Level 1	Level 2
Mean (g/dl)	4.08	7.10
SD	0.16	0.13
CV %	3.92	1.83

Precision inter-assay:

	Level 1	Level 2
Mean (g/dl)	4.07	6.81
SD	0.09	0.15
CV %	2.21	2.20

Interferences: triglycerides do not interfere up to 500 mg/dl. Glucose up to 600 mg/dl does not interfere. Albumin does not interfere up to 20 g/dl. Bilirubin at a concentration equal or greater than 12 mg/dl interfere. Hemoglobin from 0.15 g/dl interferes. Hemoglobin and bilirubin in the above concentrations involves an increase of inorganic phosphorus by about 10%.

Correlation against a reference method:

$Y = 0.9843x + 0.0742$ $r = 0.9986$

REFERENCES

1. Vassault, A. et al. Ann. Biol. Clin., 44,686 (1986).
2. Young, D.S., et al., Clin. Chem. 21:1D (1975).
3. Yee H. Y., Clin. Chem. 14, 898 (1968).
4. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2th Edition, Burtis-Ashwood (1994).