

REF 10221-4 4 x 29 ml / 6 ml

FOSFORO (PHOS)

Flaconi contenenti ciascuno 29 ml di volume utilizzabile di reagente R1 e 6 ml di reagente R2.

USO PREVISTO

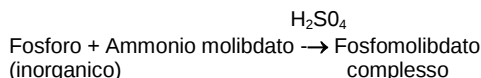
Il reagente EasyRA PHOS è indicato per la misurazione quantitativa del fosforo nel siero e nel plasma umani (con litio eparina come anticoagulante) utilizzando l'analizzatore chimico clinico MEDICA EasyRA® in laboratori clinici. Le misurazioni del fosforo trovano applicazione nella diagnosi e nella cura delle disfunzioni paratiroidi, delle patologie renali e dello squilibrio della vitamina D. Solo per uso diagnostico *in vitro*. Solo per uso professionale.

RIEPILOGO E SPIEGAZIONE

La maggior parte del fosforo (PHOS; 80%) riscontrato nel corpo umano è legato al calcio e si trova nelle ossa e nei denti. Il restante fosfato inorganico si combina con carboidrati, proteine, lipidi ed è distribuito in tutto il corpo. Esiste una proporzione inversa tra le concentrazioni di calcio e di fosforo all'interno del corpo. Un aumento dell'uno solitamente porta ad una diminuzione dell'altro e viceversa. Un aumento del fosfato inorganico nel siero è solitamente il risultato di una dose eccessiva di vitamina D, di ipoparatiroidismo o di insufficienza renale. Una diminuzione del fosfato nel siero può essere la conseguenza di rachitismo, iperparatiroidismo o un indicatore della diminuzione nell'assorbimento di fosforo da parte del paziente.¹

PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

Il metodo descritto da Daly e Ertingshausen² implica la reazione del fosforo inorganico con ammonio molibdato in un mezzo acido per formare un complesso fosfomolibdato dal colore giallo.



L'aumento dell'assorbanza a 340 nm è direttamente proporzionale alla concentrazione di fosforo inorganico nel campione.

REAGENTI

Reagente per fosforo (R1):

Acido solforico (H ₂ SO ₄), pH <1	170 mmol/l
tensioattivo	

Reagente per fosforo (R2):

Ammonio molibdato	2,8 mmol/l
Acido solforico (H ₂ SO ₄), pH <1	170 mmol/l

PRECAUZIONI

1. Seguire sempre buone prassi di sicurezza di laboratorio quando si maneggiano reagenti di laboratorio. (CLSI, GP17-A2).
2. I reagenti contengono acido solforico, che è corrosivo e causa ustioni. NON inalare né ingerire ed evitare qualunque contatto con occhi e pelle. In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare un medico. In caso di contatto accidentale con la pelle, risciacquare immediatamente con acqua per 10 minuti. In caso di ingestione, consultare immediatamente un medico. Per informazioni su rischi, pericoli e sicurezza fare riferimento alle schede di sicurezza (SDS).
3. Come per qualunque altra procedura di test diagnostico, i risultati devono essere interpretati alla luce dei risultati prodotti da altri test e dello stato clinico del paziente.
4. Non utilizzare cuvette lavate.

ISTRUZIONI PER LA MANIPOLAZIONE, LA CONSERVAZIONE E LA STABILITÀ DEL REAGENTE

Il reagente viene fornito pronto all'uso. Il reagente in confezione chiusa si mantiene stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta se conservato ad una temperatura di 18-25 °C. Il reagente è stabile on-board nel vano reagenti refrigerato dell'analizzatore EasyRA per il numero di giorni programmati sul chip RFID del flacone di reagente, se questo è stato rimosso alla fine di ogni giornata e conservato per tutta la notte a 18-25 °C. Non usare il reagente qualora questo si presenti torbido od opaco o nel caso in cui non riesca a recuperare i valori noti di controllo del siero.

PRELIEVO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI/STABILITÀ

È necessario usare siero e plasma puliti non emolizzati. Per la raccolta del plasma è possibile utilizzare provette con rivestimento in litio-eparina. Centrifugare e rimuovere il siero o il plasma appena possibile dopo il prelievo, in quanto gli eritrociti possono rilasciare fosfato inorganico per idrolisi o per attività di fosfatasi inerente.³ Il fosforo serico è stabile per 7 giorni a 2-8 °C⁴ o per 6 mesi a -20 °C.

PROCEDURA

Materiale fornito

Flacone di reagente per fosforo Medica, REF 10214

Ulteriore materiale necessario

Medica EasyCal Chimica, REF 10651

Medica EasyQC® Chimica/Elettroliti – Livello A, REF 10793

Medica EasyQC Chimica/Elettroliti – Livello B, REF 10794

Flacone per analisi colorimetrica di precisione Medica, REF 10764

Flacone di detergente Medica – Chimica e ISE, REF 10660, *oppure*

Flacone di detergente – Chimica, REF 10661

Istruzioni per l'uso

Il reagente viene fornito pronto all'uso. Rimuovere il tappo e collocare il reagente nel piatto reagenti dell'analizzatore EasyRA situato nell'area reagenti. La stabilità on-board (30 giorni massimo) è programmata sul chip RFID del flacone del reagente. Il flacone di fosforo deve essere riappiombato e rimosso dall'analizzatore a fine giornata e deve essere conservato a 18-25 °C.

Nota: verificare che non sia presente schiuma nella parte interna del collo del flacone dopo aver rimosso il tappo e aver collocato il flacone sull'analizzatore EasyRA. Qualora fosse presente schiuma, rimuoverla con un tampone o una pipetta monouso prima di eseguire il test. Usare pipette monouso o tamponi diversi per i reagenti R1 e R2.

Calibrazione

Per la calibrazione dell'analisi si consiglia Medica EasyCal Chimica (REF 10651). L'intervallo di calibrazione (30 giorni massimo) è programmato sul chip RFID posto sul flacone del reagente. Ogni qual volta il numero di lotto del reagente cambia o si verifica uno spostamento nei valori di controllo qualità è necessario eseguire nuovamente la calibrazione.

Controllo qualità

Si consiglia di eseguire due livelli di controllo del siero umano (normale e anormale) con l'analisi giornalmente qualora vengano effettuati test sui pazienti e ogni qual volta il lotto di reagenti cambia. Il mancato raggiungimento dell'intervallo corretto di valori nel test del materiale di controllo può essere indice di deterioramento del reagente, malfunzionamento dello strumento o errori procedurali. Quando viene utilizzato il materiale di controllo qualità, il laboratorio deve attenersi alla normativa locale, nazionale e federale in materia di controllo di qualità.

Risultati

Dopo aver completato l'analisi, l'analizzatore EasyRA calcola la concentrazione di fosforo dal rapporto tra l'assorbanza corretta (sottraendo l'assorbanza del bianco reagente e del bianco campione) del campione e l'assorbanza corretta allo stesso modo del calibratore (dopo aver sottratto l'assorbanza del bianco reagente e del bianco campione) moltiplicato per la concentrazione del calibratore.

$$\text{PHOS (mg/dl)} = \frac{[(A_{U_{340}} - A_{RBlk_{340}})] - [(A_{U_{340}} - A_{RBlk_{340}})]_{SBlk} \times dF}{[(A_{C_{340}} - A_{RBlk_{340}})] - [(A_{C_{340}} - A_{RBlk_{340}})]_{SBlk} \times dF} \times \text{Cal Value}$$

Dove A_U è l'assorbanza del campione sconosciuto, A_{RBlk} è l'assorbanza del bianco reagente associato al campione sconosciuto, $SBlk$ è il bianco campione associato al campione sconosciuto. Tutte le assorbanze contrassegnate da una "C" sono associate al calibratore. Conseguentemente all'aggiunta ritardata del reagente R2, nel calcolo è compreso un fattore di correzione della diluizione (dF).

Valori Attesi⁵

L'intervallo di riferimento per il fosforo nel siero e nel plasma è il seguente:

Adulti: 2,5 - 4,8 mg/dl

Tali valori rappresentano delle linee guida. Si consiglia a ciascun laboratorio di stabilire il proprio intervallo di valori attesi, in quanto esistono differenze tra strumenti, laboratori e popolazioni locali.

Limiti procedurali (ad es. se il campione è al di sopra dell'intervallo di misura)

L'analizzatore EasyRA evidenzia qualunque risultato al di sopra di 20 mg/dl come "LH" (linearità alta). Se l'icona di "Riesecuzione" viene selezionata, è possibile che il campione venga ritestato utilizzando la metà (1/2) del volume del campione. I risultati del test rieseguito vengono calcolati tenendo conto dell'uso di volumi inferiori del campione. In tal modo l'intervallo accettabile del test del fosforo viene esteso a 40 mg/dl.

CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE⁶

Intervallo accettabile

L'intervallo accettabile è compreso tra 0,11 e 20 mg/dl. L'intervallo esteso è compreso tra 0,11 e 40 mg/dl quando viene utilizzata la metà del campione (fattore di diluizione 1:1).

Imprecisione/Correlazione (CLSI, EP9-A2)

La tabella seguente elenca i dati ottenuti in un confronto del reagente per fosforo Medica (y) su un analizzatore EasyRA con la prestazione di un reagente per fosforo simile (x) sull'analizzatore Roche COBAS MIRA*. I dati di seguito illustrati rappresentano le singole determinazioni ottenute sull'analizzatore EasyRA a fronte della media di due valori ripetuti ottenuti sull'analizzatore Roche COBAS MIRA.

Numero di campioni	46	Intervallo dei campioni	da 0,20 a 19,67 mg/dl
Pendenza	0,9802	Intercetta y	0,0058
Coefficiente di correlazione	0,9927	Equazione di regressione:	$Y = 0,9802 \cdot X + 0,0058$

La tabella seguente elenca i dati ottenuti in un confronto di campioni abbinati di siero (x) e plasma (y) trattato con litio-eparina con il reagente per fosforo Medica sull'analizzatore EasyRA. I dati che seguono rappresentano una sola misurazione del plasma rispetto alla media di due valori replicati del siero.

Numero di campioni	77	Intervallo dei campioni	da 0,75 a 18,32 mg/dl
Pendenza	1,0070	Intercetta y	-0,2462
Correlazione	0,9966	Equazione di regressione	$Y = 1,0070 \cdot X - 0,2462$

*Cobas Mira è un marchio registrato di Roche Diagnostics, INC., Indianapolis, IN.

NOTA: i risultati relativi al fosforo nel plasma possono essere di circa il 4% inferiori a quelli relativi al siero.⁷ Medica raccomanda che i laboratori clinici definiscano i propri intervalli di riferimento per il test ALP, in base al tipo di campione.

Imprecisione (CLSI, EP5-A2)

Le misurazioni duplicate di ciascuno dei tre livelli di materiale di controllo qualità sono state analizzate due volte al giorno per 20 giorni. Da questi dati sono state determinate sia la precisione intra-serie che quella totale.

Imprecisione intra-serie:

Livello QC mg/dl	SD intra-serie mg/dl	CV intra-serie %
7,39	0,05	0,68
4,54	0,05	1,01
1,83	0,02	1,03

Imprecisione totale:

Livello QC mg/dl	SD imprecisione totale mg/dl	CV imprecisione totale %
7,39	0,15	2,10
4,54	0,16	3,55
1,83	0,04	1,94

Linearità (CLSI, EP6-A)

Lineare da 0,11 a 20 mg/dl, basata sulla regressione lineare $Y = 1,0567 \cdot X - 0,2576$.

Limite di vuoto:	0,04 mg/dl	(CLSI, EP17-A)
Limite di rilevamento:	0,09 mg/dl	(CLSI, EP17-A)

Sostanze interferenti (NCCLS, EP7-A)

Le interferenze inferiori al 10% sono state classificate come "non significative".

In livelli fino a 500 mg/dl di emoglobina non sono state riscontrate interferenze significative.

In livelli fino a 25 mg/dl di bilirubina non sono state riscontrate interferenze significative.

In livelli fino a 1740 mg/dl di trigliceridi non sono state riscontrate interferenze significative (usando Intralipid*).

*Intralipid è un marchio registrato di Pharmacia AB, Clayton, NC.

Young fornisce un elenco di medicinali e altre sostanze che interferiscono con i test chimici clinici.^{8,9}

RIFERIMENTI

1. Endres, D.B., Rude, R.K. *Mineral and Bone Metabolism*. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, Burtis, C.A. et Ashwood, E.R. (W.B. Saunders, eds. Philadelphia USA) 2001: 795.
2. Daly, J.A. and Ertingshausen, G. *Direct Method for Determining Inorganic Phosphorus in Serum with the Centrifichem*, Clin.Chem. 18:263, (1972)
3. Kaplan, L., Pesce, A.J. *Clinical Chemistry, Theory, Analysis, Correlation*, Third Edition, Mosby, P. 1996:552.
4. Henry, R.J. *Clinical Chemistry – Principles and Technics*, New York, NY: Harper and Row; 1974.
5. Burtis, C.A. and Ashwood, E.R. (Eds), Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition, W.B. Saunders Co., Philadelphia (1994).
6. Dati in archivio presso Medica.
7. Ciuti, R., Rinaldi, G. *Serum and Plasma Compared for Use in 19 Common Chemical Tests Performed in the Hitachi 737 Analyzer*, Clin. Chem. 35:1562. (1989).
8. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995.
9. Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC: AACC Press; 1997.

Parametri dell'analisi EasyRA (PHOS)

Lunghezza d'onda (nm)	340
Tipo di reazione	Punto finale (2)
Direzione di reazione	Aumento
Bianco reagente	Sì (con ciascuna calibrazione)
Bianco campione	Sì
Tempo di reazione	2,4 min
Intervallo di calibrazione (massimo)	30 giorni
Stabilità on-board del reagente	30 giorni

Siero/Plasma

Volume del campione (µl)	4,0
Volume del diluente 1 (µl)	10
Volume del diluente 2 (µl)	10
Volume del reagente R1 (µl)	166
Volume del reagente R2 (µl)	33
Posizioni decimali (predefinite)	2
Unità (valori predefiniti)	mg/dl
Fattore di diluizione	1:1 (per estendere l'intervallo di misurazione)
Linearità	da 0,11 a 20 mg/dl



Medica Corporation, 5 Oak Park Drive
Bedford, MA 01730-1413 USA



Emergo Europe, Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague, The Netherlands