

## Quantitative determination of phosphorus IVD

Store at 2-8°C

### PRINCIPLE OF THE METHOD

Direct method for determining inorganic phosphate. Inorganic phosphate reacts in acid medium with ammonium molybdate to form a phosphomolybdate complex with yellow color. The intensity of the color formed is proportional to the inorganic phosphorus concentration in the sample<sup>1,2</sup>.

### CLINICAL SIGNIFICANCE

Phosphorus is an essential mineral for tissue bone formation and is required by every cell in the body for normal function. Approximately 85% of the body phosphorus is found in bone and in teeth. Low levels of phosphorus, can be caused by hypervitaminosis D, primary hyperparathyroidism, renal tubular disorders, antacids or malabsorption. High levels of phosphorus can be caused by diet, bone metastases, liver disease, alcohol ingestion, diarrhea and vomiting<sup>1,5,6</sup>. Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

### REAGENTS

R Molybdc	Ammonium molybdate	0,40 mM
	Sulphuric acid (SO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> ) Detergents	210 mM
<b>PHOSPHORUS CAL</b>	Phosphorus aqueous primary standard 5 mg/dL	

### PRECAUTIONS

R: H290-May be corrosive to metals. H314-Causes severe skin burns and eye damage. Follow the precautionary statements given in MSDS and label of the product.

### PREPARATION

Reagent and Standard are ready to use.

### STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use. Do not use reagents over the expiration date.

#### Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 340 nm ≥ 0,54.

### ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 340 nm.
- Matched cuvettes 1,0 cm light path.
- General laboratory equipment <sup>(Note 2)</sup>.

### SAMPLES

- Serum or plasma<sup>1,5</sup>:  
Free of haemolysis. Serum or plasma should be removed from the clot as quickly as possible to avoid elevation of serum phosphorus from hydrolysis or leakage of phosphate present in erythrocytes. Stability: 7 days at 2-8°C.
- Urine<sup>1,2</sup> (24 h):  
Collect the specimen into a bottle containing 10 mL of 10% v/v hydrochloric acid (HCl) to avoid phosphate precipitations. Adjust to pH 2. Dilute the sample 1/10 with distilled water. Mix. Multiply the result by 10 (dilution factor). Stability: 10 days at 2-8°C.

### PROCEDURE

- Assay conditions:  
Wavelength: ..... 340 nm  
Cuvette: ..... 1 cm. light path  
Temperature: ..... 37°C / 30°C / 25°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water.
- Pipette into a cuvette <sup>(Note 4)</sup>:

	Blank	Standard	Sample
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Standard <sup>(Note 1,3)</sup> (µL)	--	10	--
Sample (µL)	--	--	10

- Mix and incubate for 5 minutes.
- Read the absorbance (A) of the samples and Standard, against the Blank.

### CALCULATIONS

Serum:  $\frac{(A)Sample - (A)Blank}{(A)Standard - (A)Blank} \times 5$  (Standard conc.) = mg/dL of phosphorus

Urine 24 h:  $\frac{(A)Sample - (A)Blank}{(A)Standard - (A)Blank} \times 5 \times \text{vol. (dL) urine 24 h}$  = mg/24 h of phosph.

**Conversion factor:** mg/dL x 0,323 = mmol/L.

### QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210). If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and calibrator for problems. Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

### REFERENCE VALUES<sup>1</sup>

Serum or plasma:

Children 4,0 – 7,0 mg/dL ≅ 1,29 – 2,26 mmol/L  
Adults 2,5 – 5,0 mg/dL ≅ 0,80 – 1,61 mmol/L

Urine:

Adults 0,4 – 1,3 g /24 h

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

**Measuring range:** From *detection limit* of 0,000 mg/dL to *linearity limit* of 35 mg/dL.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/2 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 2.

#### Precision:

	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
Mean (mg/dL)	4,09	7,12	4,11	7,09
SD	0,03	0,046	0,09	0,06
CV (%)	0,62	0,80	2,15	0,80

**Sensitivity:** 1 mg/dL = 0,0798 A.

**Accuracy:** Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x). The results obtained using 50 samples were the following:  
Correlation coefficient (r)<sup>2</sup>: 0,8577.

Regression equation: y = 0,724x + 0,837.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

### INTERFERENCES

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<sup>5</sup>. A list of drugs and other interfering substances with phosphorus determination has been reported by Young et al.<sup>3,4</sup>.

### NOTES

- PHOSPHORUS CAL: Proceed carefully with this product because due its nature it can get contaminated easily.
- Most of the detergents and water softening products used in the laboratories contain chelating agents and phosphates. It is recommended to rinse glassware in diluted nitric acid and water before using.
- Calibration with the aqueous standard may cause a systematic error in automatic procedures. In these cases, it is recommended to use a serum Calibrator.
- Use clean disposable pipette tips for its dispensation.
- SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.**

### BIBLIOGRAPHY

- Farrell E C. Phosphorus. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1072-1074 and 418.
- Daly J A. et al. Clin Chem 1972; 18 (3): 263-265.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.
- Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC 1995.

### PACKAGING

Ref: 1001155  
Ref: 1001156

Cont.

R: 2 x 150 mL, CAL: 1 x 5 mL  
R: 1 x 100 mL, CAL: 1 x 2 mL

**Determinación cuantitativa de fósforo IVD**

Conservar a 2-8°C

**PRINCIPIO DEL MÉTODO**

Método directo para la determinación de fósforo inorgánico. El fósforo inorgánico reacciona en medio ácido con molibdato amónico formando un complejo fosfomolibdico de color amarillo. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de fósforo inorgánico presente en la muestra ensayada<sup>1,2</sup>.

**SIGNIFICADO CLÍNICO**

El fósforo, es esencial para la formación del tejido óseo y el metabolismo energético celular. Aproximadamente un 85% se encuentra en el hueso y en los dientes.

Niveles bajos de fósforo pueden ser debidos a hipervitaminosis D, hipertiroidismo primario, desordenes renales, ingestión de antiácidos o mala absorción.

Niveles altos son atribuidos a la dieta, metástasis de huesos, alteraciones en el hígado, alcoholismo, diarreas y vómitos<sup>1,5,6</sup>.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

**REACTIVOS**

<b>R</b>	Molibdato amónico	0,40 mM
Molibdico	Ácido sulfúrico (SO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> )	210 mM
	Detergente	
<b>PHOSPHORUS CAL</b>	Patrón primario acuoso de Fósforo	5 mg/dL

**PRECAUCIONES**

R: H290-Puede ser corrosivo para los metales. H314-Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

**PREPARACIÓN**

Reactivo y Patrón listos para su uso.

**CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD**

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita la contaminación durante su uso. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

**Indicadores de deterioro de los reactivos:**

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 340 nm  $\geq$  0,54.

**MATERIAL ADICIONAL**

- Espectrofotómetro ó analizador para lecturas a 340 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio<sup>(Nota 1,2)</sup>.

**MUESTRAS**

- Suero o plasma<sup>1,5</sup>: Libre de hemólisis. El suero o plasma deben separarse lo antes posible de los eritrocitos con el fin de evitar la liberación de fósforo de los hematíes. Estabilidad: 7 días a 2-8°C.
- Orina<sup>1,2</sup> (24 h): Recoger la orina en recipientes conteniendo 10 mL de ácido clorhídrico (CIH) al 10% (v/v) para evitar la precipitación de fosfatos. Ajustar pH 2. Diluir la muestra 1/10 con agua destilada. Mezclar. Multiplicar el resultado por 10 (factor de dilución). Estabilidad: 10 días a 2-8°C.

**PROCEDIMIENTO**

- Condiciones del ensayo:  
Longitud de onda: ..... 340 nm  
Cubeta: ..... 1 cm paso de luz  
Temperatura: ..... 37°C / 30°C / 25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta<sup>(Nota 4)</sup>:

	Blanco	Patrón	Muestra
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón <sup>(Nota 1,3)</sup> (µL)	--	10	--
Muestra (µL)	--	--	10

- Mezclar e incubar 5 minutos.
- Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo.

**CÁLCULOS**

Suero:  $\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times 5$  (Conc. Patrón) = mg/dL de fósforo en la muestra

Orina 24 h:  $\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times 5 \times \text{vol. (dL) orina/24h}$  = mg/24 h de fósforo

**Factor de conversión:** mg/dL x 0,323= mmol/L.

**CONTROL DE CALIDAD**

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador. Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

**VALORES DE REFERENCIA<sup>1</sup>**

Suero o plasma:		
Niños	4,0 – 7,0 mg/dL	$\cong$ 1,29 – 2,26 mmol/L
Adultos	2,5 – 5,0 mg/dL	$\cong$ 0,80 – 1,61 mmol/L
Orina:		
Adultos	0,4 – 1,3 g /24 h	

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

**CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO**

**Rango de medida:** Desde el *límite de detección* de 0,000 mg/dL hasta el *límite de linealidad* de 35 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con CIH a 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

**Precisión:**

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (mg/dL)	4,09	7,12	4,11	7,09
SD	0,03	0,046	0,09	0,06
CV (%)	0,62	0,80	2,15	0,80

**Sensibilidad analítica:** 1 mg/dL = 0,0798 A.

**Exactitud:** Los reactivos de SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x). El ensayo con 50 muestras dio los siguientes resultados:

Coefficiente de correlación (r)<sup>2</sup>: 0,8577.

Ecuación de la recta de regresión: y = 0,724x + 0,837.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

**INTERFERENCIAS**

No realizar la prueba con muestras hemolizadas ya que los hematíes contiene una alta concentración de esteres de fósforo orgánico, que es hidrolizado a fósforo inorgánico durante su conservación, el incremento es de 4-5 mg/dL por día<sup>5</sup>. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación del fosforo<sup>3,4</sup>.

**NOTAS**

- PHOSPHORUS CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- La mayoría de detergentes utilizados para el lavado de material contienen quelantes y fosfatos que interfieren en el ensayo. Se recomienda limpiar el material con ácido nítrico diluido y enjuagar abundantemente con agua desionizada.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

**BIBLIOGRAFÍA**

- Farrell E C. Phosphorus. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1072-1074 and 418.
- Daly J A. et al. Clin Chem 1972; 18 (3): 263-265.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.
- Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC 1995.

**PRESENTACIÓN**

Ref: 1001155 Cont. R: 2 x 150 mL, CAL: 1 x 5 mL  
Ref: 1001156 R: 1 x 100 mL, CAL: 1 x 2 mL

# Phosphoreo

## Phosphomolybdate UV

### Détermination quantitative de phosphore IVD

Conserver à 2-8°C

#### PRINCIPE DE LA METHODE

Méthode directe pour déterminer le phosphore inorganique. Le phosphore inorganique réagit en milieu acide avec le molybdate d'ammonium, en formant un complexe phosphomolybdique de couleur jaune. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de phosphore inorganique présent dans l'échantillon testé<sup>1,2</sup>.

#### SIGNIFICATION CLINIQUE

Le phosphore est essentiel pour la formation du tissu osseux et du métabolisme énergétique cellulaire. Près de 85% de phosphore se trouve dans les os et les dents.

Des niveaux faibles de phosphore peuvent être dus à une trop grande présence de vitamine D, à un hypertyroïdisme primaire, à des troubles rénaux, à une ingestion d'antiacides ou à une mauvaise ingestion.

Des niveaux élevés sont dus au régime, à la métastase des os, aux altérations dans le foie, à l'alcoolisme, à des diarrhées et à des vomissements<sup>1,5,6</sup>.

La diagnostique clinique doit être réalisée en tenant compte des données cliniques et de laboratoire.

#### REACTIFS

<b>R</b> Molybdique	Molybdate d'ammonium Acide sulfurique (SO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> ) Détergent	0,40 mM 210 mM
<b>PHOSPHORUS CAL</b>	Étalon primaire de détection de phosphore 5mg/dL	

#### PRECAUTIONS

R: H290 - Peut être corrosif pour les métaux. H314-Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. Suivez les conseils de prudence donnés en SDS et étiquette.

#### PREPARATION

Réactif et patron prêts à l'emploi.

#### CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur le flacon, et s'ils sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination. Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

#### Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorption (A) du blanc à 340 nm ≥ 0,54.

#### MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour lectures à 340 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire (Remarque 2).

#### ECHANTILLONS

- Sérum ou plasma<sup>1,5</sup>: Sans hémolyse. Le sérum ou le plasma doivent être séparés le tût possible des érythrocytes afin d'éviter la libération de phosphate des hématies. Stabilité: 7 jours à 2-8°C.
- Urine<sup>1,2</sup> (24 h): Récupérer l'urine dans des récipients contenant 10 mL d'acide chlorhydrique (ClH), à 10% (v/v) pour éviter la précipitation des phosphates. Ajuster le pH 2. Diluer l'échantillon à 1/10 d'eau distillée. Mélanger. Multiplier le résultat par 10 (facteur de dilution). Stabilité: 10 jours à 2-8°C.

#### PROCEDURE

- Conditions de test:  
Longueur d'ondes: ..... 340 nm  
Cuvette: ..... 1 cm d'éclairage  
Température: ..... 37/30/25°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
- Pipetter dans une cuvette (Remarque 4).

	Blanc	Étalon	Echantillon
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Étalon (Remarque 1, 3) (µL)	--	10	--
Echantillon (µL)	--	--	10

- Mélanger, laisser incuber 5 minutes.
- Lire l'absorption (A) du étalon et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif.

#### CALCULS

Sérum:  $\frac{(A)Échantillon - (A)Blanc}{(A)Étalon - (A)Blanc} \times 5$  (Étalon conc.) = mg/dL de phosphore dans l'échantillon

Urine 24 h:  $\frac{(A)Échantillon - (A)Blanc}{(A)Étalon - (A)Blanc} \times 5 \times \text{vol. (dL) urine}/24\text{h} = \text{mg}/24\text{ h de phosphore}$

**Facteur de conversion:** mg/dL x 0,323= mmol/L.

#### CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibre.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

#### VALEURS DE REFERENCE<sup>1</sup>

Sérum ou plasma:

Enfants	4,0 – 7,0 mg/dL	≅	1,29 – 2,26 mmol/L
Adultes	2,5 – 5,0 mg/dL	≅	0,80 – 1,61 mmol/L

Urine:

Adultes	0,4 – 1,3 g /24 h
---------	-------------------

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

#### CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

**Gamme de mesures:** Depuis la limite de détection 0,000 mg/dL jusqu'à la limite de linéarité 35 mg/dL.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec du NaCl 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

#### Précision:

	Intra-série (n= 20)		Inter-série (n= 20)	
	Moyenne (mg/dL)	SD	CV (%)	
Moyenne (mg/dL)	4,09	7,12	4,11	7,09
SD	0,03	0,046	0,09	0,06
CV (%)	0,62	0,80	2,15	0,80

**Sensibilité analytique:** 1 mg/dL = 0,0798 A.

**Exactitude:** Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r): 0,8577.

Equation de la Coubre de régression:  $y=0,724x + 0,837$ .

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

#### INTERFERENCES

Ne pas réaliser le test avec des échantillons hémolysés étant donné que les hématies contiennent une forte concentration d'esters de phosphore organique, qui est hydrolysé avec du phosphore inorganique pendant sa conservation, l'augmentation est de 4-5 mg/dL par jour<sup>5</sup>. Différentes drogues ont été décrites, ainsi que d'autres substances pouvant interférer dans la détermination du phosphore.<sup>3,4</sup>.

#### REMARQUES

- PHOSPHORUS CAL: Etant donné la nature du produit, il est conseillé de le manipuler avec une extrême précaution. En effet, il peut facilement être contaminé.
- La majorité des détergents utilisés pour le nettoyage des instruments contient des agents chélatants et des phosphates qui altèrent le test.
- Il est conseillé de nettoyer le matériel avec de l'acide nitrique dilué et de rincer abondamment avec de l'eau dé ionisée. Le calibrage au moyen du patron de détection peut donner lieu à des erreurs systématiques lors de méthodes automatiques. Dans de tels cas, il est conseillé d'utiliser des calibrages sériques
- Utiliser des embouts de pipettes jetables propres pour diffuser le produit.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.**

#### BIBLIOGRAPHIE

- Farrell E C. Phosphorus. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1072-1074 and 418.
- Daly J A. et al. Clin Chem 1972; 18 (3): 263-265.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.
- Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC 1995.

#### PRESENTATION

Ref: 1001155  
Ref: 1001156

Cont.

R: 2 x 150 mL, CAL: 1 x 5 mL  
R: 1 x 100 mL, CAL: 1 x 2 mL

## Determinação quantitativa de fósforo IVD

Conservar a 2-8°C

### PRINCÍPIO DO MÉTODO

Método directo para a determinação do fósforo inorgânico. O fósforo inorgânico reage em meio ácido com o molibdato de amónio formando um complexo fosfomolibdico de cor amarela. A intensidade da cor formada é proporcional à da concentração de fósforo inorgânico presente na amostra testada<sup>1,2</sup>.

### SIGNIFICADO CLÍNICO

O fósforo é essencial para a formação do tecido ósseo e para o metabolismo energético celular. Aproximadamente 85% residem no osso e nos dentes.

Níveis baixos de fósforo podem ser devido a hipervitaminoses D, hipertireoidismo primário, perturbações renais, ingestão de antiácidos ou má absorção.

Níveis elevados são atribuídos à dieta, metástases nos ossos, alterações no fígado, alcoolismo, diarreias e vômitos<sup>1,5,6</sup>.

O diagnóstico clínico deve ser feito tendo em consideração toda a informação clínica e laboratorial.

### REAGENTES

R	Molibdato de amónia	0,40 mM
Molibdico	Ácido sulfúrico (SO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> ) Detergente	210 mM
<b>FÓSFORO CAL</b>	Padrão primario aquoso de Fósforo	5 mg/dL

### PRECAUÇÕES

R: H290 - Pode ser corrosivo para metais. H314-Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.

Seguir os conselhos de prudência dados em SDS e etiqueta.

### PREPARAÇÃO

Reagente e padrão prontos a utilizar.

### CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis até à data de validade indicada na etiqueta, quando se mantém os frascos bem fechados, a 2-8°C, protegidos da luz e se evita a sua contaminação. Não usar reagentes fora de prazo.

### Indicadores de deterioração dos reagentes:

- Presença de partículas e turvação.
- Absorvância (A) do Branco a 340 nm  $\geq$  0,54.

### MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro ou equipamento para leituras a 340 nm.
- Cuvetes de 1,0 cm de passo de luz.
- Equipamento habitual de laboratório<sup>(Nota 2)</sup>.

### AMOSTRAS

- Soros ou plasma<sup>1,5</sup>.

Livre de hemólise. O soro ou o plasma devem ser separados o mais rapidamente possível dos eritrócitos com o objectivo de evitar a libertação de fósforo das hemácias. Estabilidade: 7 dias a 2-8°C.

- Urina<sup>1,2</sup> (24 h):

Recolher a urina em recipientes contendo 10 mL de ácido clorídrico (HCl) a 10% (v/v) para evitar a precipitação de fosfatos. Ajustar a pH 2.

Diluir a amostra 1/10 com água destilada. Agitar. Multiplicar o resultado por 10 (factor de diluição). Estabilidade: 10 dias a 2-8°C.

### PROCEDIMENTO

- Condições do ensaio:  
Comprimento de onda: ..... 340 nm  
Cuvete: ..... 1 cm de passo de luz  
Temperatura: ..... 37°C / 30°C / 25°C
- Ajustar o espectrofotómetro a zero com a água destilada.
- Pipetar para uma cuvette <sup>(Nota 4)</sup>:

	Branco	Padrão	Amostra
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Padrão <sup>(Nota 1,3)</sup> (µL)	--	10	--
Amostra (µL)	--	--	10

- Agitar e incubar 5 minutos.
- Ler a absorvância (A) do Padrão e da amostra, frente ao Branco de reagente.

### CÁLCULOS

Soro:  $(A) \text{ Amostra} - (A) \text{ Branco} \times 5$  (Conc. Padrão) = mg/dL de fósforo na amostra  
(A) Padrão - (A) Branco

Urina 24 h:  $(A) \text{ Amostra} - (A) \text{ Branco} \times 5 \times \text{vol. (dL) urina/24h}$  = mg/24 h de fósforo  
(A) Padrão - (A) Branco

**Factor de conversão:** mg/dL x 0,323 = mmol/L.

### CONTROLO DE QUALIDADE

É conveniente analisar juntamente com as amostras, os soros controlo valorizados:

SPINTROL H Normal e Patológico (Ref. 1002120 e 1002210).

Se os valores determinados estiverem fora do intervalo de tolerância, verificar o equipamento, os reagentes e o calibrador.

Cada laboratório deve dispor do seu próprio Controlo de Qualidade e estabelecer correcções caso os controlos não cumpram com as tolerâncias.

### VALORES DE REFERENCIA<sup>1</sup>

Soro ou plasma:

Crianças 4,0 – 7,0 mg/dL  $\cong$  1,29 – 2,26 mmol/L  
Adultos 2,5 – 5,0 mg/dL  $\cong$  0,80 – 1,61 mmol/L

Urina:

Adultos 0,4 – 1,3 g/24 h

Estes valores são orientativos. É recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

### CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

**Intervalo de medida:** Desde o *limite de detecção* de 0,000 mg/dL até ao *limite de linearidade* de 35 mg/dL.

Se a concentração da amostra é superior ao limite de linearidade, diluir 1/2 com NaCl 9 g/L e multiplicar o resultado final por 2.

### Precisão:

	Intra-ensaio (n= 20)		Inter-ensaio (n= 20)	
Media (mg/dL)	4,09	7,12	4,11	7,09
SD	0,03	0,046	0,09	0,06
CV (%)	0,62	0,80	2,15	0,80

**Sensibilidade analítica:** 1 mg/dL = 0,0798 A.

**Exactidão:** Os reagentes SPINREACT (y) não apresentam diferenças sistemáticas significativas quando se comparam com outros reagentes comerciais (x). Os resultados obtidos com 50 amostras foram os seguintes:

Coefficiente de correlação (r)<sup>2</sup>: 0,8577.

Equação da recta de regressão:  $y = 0,724x + 0,837$ .

As características do método podem variar segundo o equipamento utilizado

### INTERFERÊNCIAS

Não realizar o teste com amostras hemolizadas pois as hemácias contêm uma concentração elevada de esteres de fósforo orgânico, que é hidrolizado a fósforo inorgânico durante a sua conservação sendo a aumento de 4-5 mg/dL por dia<sup>5</sup>. Encontram-se descritas varias drogas e outras substancias que interferem com a determinação do fosforo<sup>3,4</sup>.

### NOTAS

- FÓSFORO CAL: Devido á natureza do produto, é aconselhável maneja-lo com cuidado uma vez que se pode contaminar com muita facilidade.
- A maioria dos detergentes utilizados para a lavagem do material contém quelantes e fosfatos que interferem no ensaio.
- Recomenda-se a limpeza do material com ácido nítrico diluido e enxaguamento abundantemente com água desionizada.
- A calibração com o padrão aquoso pode provocar a erros sistemáticos em métodos automáticos. Neste caso, recomenda-se a utilização de calibradores séricos.
- Usar pontas de pipeta descartáveis limpas para a sua dispensação. **SPINREACT dispõe de instruções detalhadas para a aplicação deste reagente em diferentes equipamentos.**

### BIBLIOGRAFIA

- Farrell E C. Phosphorus. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1072-1074 and 418.
- Daly J A. et al. Clin Chem 1972; 18 (3): 263-265.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.
- Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC 1995.

### APRESENTAÇÃO

Ref: 1001155

Ref: 1001156

Cont.

R: 2 x 150 mL, CAL: 1 x 5 mL

R: 1 x 100 mL, CAL: 1 x 2 mL