



Fosfatemia

AA

Método UV para la determinación de fósforo inorgánico (Pi) en suero, plasma u orina

SIGNIFICACION CLINICA

El fósforo se encuentra en el organismo formando parte de compuestos orgánicos (proteínas, lípidos, carbohidratos, ácidos nucleicos, etc.) o como fosfatos inorgánicos, cumpliendo diversas funciones (transporte de energía, estructura de los tejidos, mantenimiento del pH de los líquidos corporales). Los tejidos óseo y muscular lo contienen como constituyente esencial y es notable su participación en la composición del tejido nervioso.

Su concentración en circulación está regulada entre otros factores por los niveles de vitamina D y las glándulas endocrinas, observándose variaciones fisiológicas de acuerdo a la edad, ingesta, actividad física, embarazo, etc.

Existen situaciones patológicas en las que se altera este equilibrio, produciéndose anomalías en la concentración de fósforo circulante.

Niveles elevados de fósforo sérico son encontrados en el hipoparatiroidismo, mientras que el hiperparatiroidismo conduce a la situación contraria. También puede encontrarse hiperfosfatemia por hipervitaminosis D y diversos trastornos renales, mientras que la hipofosfatemia se relaciona con deficiencias de vitamina D y defectos en la reabsorción de fósforo a nivel renal.

FUNDAMENTOS DEL METODO

El fósforo inorgánico (Pi) reacciona en medio ácido con el molibdato para dar un complejo fosfomolibdico que se mide espectrofotométricamente a 340 nm.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución de molibdato de amonio 2 mmol/l en ácido sulfúrico 1%.

S. Standard*: solución estabilizada de fosfatos equivalente a 4 mg/dl de fósforo inorgánico.

REACTIVOS NO PROVISTOS

Calibrador A plus de Wiener lab.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar.

PRECAUCIONES

Los Reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

El Reactivo A es corrosivo. H319: Provoca irritación ocular grave. H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. P262: Evitar el contacto con los ojos, la piel o la ropa. P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil.

Seguir enjuagando. P302 + P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. Contiene ácido sulfúrico. Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos. Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Los Reactivos Provistos son estables a temperatura ambiente hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Cuando el espectrofotómetro ha sido llevado a cero con agua destilada, la lectura de absorbancia del Reactivo A no debe ser superior a 0,500 D.O. En caso contrario, desechar.

MUESTRA

Suero, plasma u orina

a) Recolección: obtener suero de la manera usual o plasma con EDTA o citrato.

También puede realizarse la determinación en orina. En este caso, recoger orina de 24 horas en un recipiente que contenga 2 ml de ácido clorhídrico concentrado. Homogeneizar y medir la diuresis. Tomar una alícuota, centrifugar o filtrar y efectuar una dilución 1:10 en agua destilada (1 ml de orina + 9 ml de agua destilada). Proceder en la misma forma que la descrita en PROCEDIMIENTO.

b) Aditivos: en caso de que la muestra a utilizar sea plasma, se recomienda el uso de Anticoagulante W o TP de Wiener lab. para su obtención.

c) Sustancias interferentes conocidas:

- No se observan interferencias por bilirrubina hasta 58 mg/l.
- La hemólisis o lipemia son causa de resultados erróneos. Se recomienda procesar un blanco de muestras para evitar estas interferencias. Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: el suero o plasma debe ser separado de los glóbulos rojos dentro de las 2 horas de extraída la muestra, debido a que los eritrocitos contienen fosfatos orgánicos lábiles que pueden conducir a resultados falsamente elevados.

El fósforo inorgánico es estable en el suero 8 horas a temperatura ambiente. En caso de no procesarse dentro de ese lapso, se puede refrigerar (2-10°C) hasta 7 días.

La orina de 24 horas es estable 7 días refrigerada (2-10°C).

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Cubetas espectrofotométricas
- Reloj o timer

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 340 nm (Hg 334 ó 366 nm)
- Temperatura de reacción: temperatura ambiente
- Tiempo de reacción: 10 minutos
- Volumen de muestra: 10 ul
- Volumen de reacción final: 1,01 ml

PROCEDIMIENTO

En tres cubetas marcadas B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido), agregar:

	B	S	D
Standard	-	10 ul	-
Muestra	-	-	10 ul
Reactivo A	1 ml	1 ml	1 ml

Incubar 10 minutos a temperatura ambiente. Luego leer en espectrofotómetro a 340 nm (Hg 334 ó 366 nm), llevando el aparato a cero con el blanco.

ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL

La reacción final es estable 20 minutos, por lo que la absorbancia debe ser leída en ese lapso.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Suero o plasma:

Fósforo inorgánico (Pi) (mg/dl) = D x f

$$\text{donde } f = \frac{4 \text{ mg/dl}}{S}$$

Orina:

$$\text{Pi (g/24 horas)} = \frac{D}{S} \times 0,040 \times 10 \times V = \frac{D}{S} \times 0,4 \times V$$

donde:

0,040 g/l = 4 mg/dl = concentración del Standard

10 = factor de dilución

V = volumen de la diuresis expresado en litros/24 horas

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Si la muestra a ensayar es suero, procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con concentraciones conocidas de fósforo, con cada determinación. En el caso de muestras de orina, utilizar un control con base de orina.

VALORES DE REFERENCIA

Suero o plasma

Adultos: 2,5 - 5,6 mg/dl

Este rango se obtuvo de muestras provenientes de 120

individuos habitantes de la ciudad de Rosario (Argentina), de ambos sexos (entre 20 y 45 años), sin síntomas de enfermedad paratiroidea, renal o hepática o de deficiencia de vitamina D.

Niños: 4,0 - 7,0 mg/dl

Orina

0,3 - 1,0 g/24 horas

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

Pi (mg/dl) x 0,323 = Pi (mmol/l)

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.
- Todo el material de vidrio usado (incluso en la recolección de muestra) debe estar libre de fosfatos. Se recomienda, para su limpieza, usar Noion de Wiener lab.
- Para lograr una mejor performance en los resultados, se recomienda procesar un Blanco de Muestra con cada determinación, reemplazando el Reactivo por solución fisiológica. Este procedimiento es indispensable en el caso de muestras turbias, ictéricas, lipémicas o hemolizadas. La absorbancia del Blanco de Muestra debe restarse de la obtenida para el Desconocido para efectuar los cálculos.

PERFORMANCE

Los ensayos fueron realizados en analizador automático Express Plus[®].

a) Reproducibilidad: procesando replicados de la misma muestra, en un mismo día, se obtuvieron los siguientes datos:

Nivel	D.S.	C.V.
3,6 mg/dl	± 0,09 mg/dl	2,64 %
7,5 mg/dl	± 0,16 mg/dl	2,18 %

Procesando la misma muestra en diferentes días, se obtuvo:

Nivel	D.S.	C.V.
3,5 mg/dl	± 0,11 mg/dl	3,09 %
7,3 mg/dl	± 0,22 mg/dl	2,98 %

b) Recuperación: agregando cantidades conocidas de fosfato inorgánico a distintas muestras, se obtuvo una recuperación entre 98,4 y 103,5 %.

c) Linealidad: la reacción es lineal hasta 16 mg/dl. En caso de obtener valores de fósforo inorgánico superiores, debe diluirse la muestra 1:2 con solución fisiológica y repetir la determinación multiplicando por 2 el resultado obtenido.

d) Límite de detección: el menor cambio de concentración detectable será de 0,11 mg/dl.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso. Para la calibración debe emplearse **Calibrador A plus** de Wiener lab.

PRESENTACION

- 1 x 100 ml (Cód. 1382321).
- 4 x 20 ml (Cód. 1009311).

- 6 x 20 ml (Cód. 1009256).
- 6 x 20 ml (Cód. 1009614).
- 6 x 20 ml (Cód. 1009907)*.

BIBLIOGRAFIA

- Henry, R.J.; Cannon, D.C.; Winkelman, J.W. - "Clinical Chemistry, Principles and Techniques" - Harper and Row, Publishers, 1974.
- Daly, J. A. and Ertingshausen - Clin. Chem. 18:263, 1972.
- Amador, E. and Urban, J. - Clin. Chem. 18:601, 1972.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

SIMBOLOS

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.

 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea

 Uso diagnóstico "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos

 Fecha de caducidad

 Límite de temperatura (conservar a)

 No congelar

 Riesgo biológico

 Volumen después de la reconstitución

 Contenido

 Número de lote

 Elaborado por:

 Nocivo

 Corrosivo / Cáustico

 Irritante

 Consultar instrucciones de uso

 Calibrador

 Control

 Control Positivo

 Control Negativo

 Número de catálogo



Fosfatemia

AA

Método UV para a determinação de fósforo inorgânico (Pi) em soro, plasma e urina

SIGNIFICADO CLÍNICO

O fósforo encontra-se no organismo fazendo parte de compostos orgânicos (proteínas, lipídios, carboidratos, ácidos nucleicos, etc) ou como fosfatos inorgânicos, cumprindo diversas funções (transporte de energia, estrutura dos tecidos, manutenção do pH dos líquidos corporais). Os tecidos ósseo e muscular o contém como constituinte essencial e é notável sua participação na composição do tecido nervoso. Sua concentração na circulação está regulada entre outros fatores, pelos níveis de vitamina D e pelas glândulas endócrinas, observando-se variações fisiológicas de acordo com a idade, atividade física, hábitos alimentares, gravidez, etc. Existem situações patológicas nas quais este equilíbrio se altera, produzindo anormalidades na concentração do fósforo circulante.

Níveis elevados de fósforo sérico são encontrados no hipoparatiroidismo, situação inversa se observa no hiperparatiroidismo.

Também pode ser encontrado hiperfosfatemia por hipervitaminose D e diversos transtornos renais; enquanto que a hipofosfatemia se relaciona com deficiências de vitamina D e defeitos na reabsorção de fósforo a nível renal.

FUNDAMENTOS DO MÉTODO

O fósforo inorgânico (Pi) reage em meio ácido com o molibdato para dar um complexo fosfomolibdico que é medido espec-trofotometricamente a 340 nm.

REAGENTES FORNECIDOS

A. Reagente A: solução de molibdato de amônio 2 mmol/l em ácido sulfúrico a 1%.

S. Padrão*: solução estabilizada de fosfatos equivalente a 4 mg/dl de fósforo inorgânico.

REAGENTES NÃO FORNECIDOS

Calibrador A plus da Wiener lab.

INSTRUÇÕES DE USO

Reagentes Fornecidos: prontos para uso.

PRECAUÇÕES

Os Reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

O Reagente A é corrosivo. H319: Provoca irritação ocular grave.

H314: Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.

P262: Não pode entrar em contacto com os olhos, a pele ou a roupa. P305 + P351 + P338: SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se

tal lhe for possível. Continuar a enxaguar. P302 + P352: SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar com sabonete e água abundantes. P280: Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial. Contém ácido sulfúrico. Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas. Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Os Reagentes Fornecidos são estáveis sob temperatura ambiente até a data de vencimento indicada na embalagem.

INDÍCIOS DE INSTABILIDADE OU DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES

Quando o espectrofotômetro estiver zerado com água destilada, a leitura de absorbância do Reagente A não deverá ser superior a 0,500 D.O. Caso contrario descartá-lo.

AMOSTRA

Soro, plasma ou urina

a) Coleta: obter soro de maneira usual ou plasma colhido com EDTA ou citrato.

Pode-se realizar a determinação com urina. Neste caso, deve-se coletar a urina de 24 horas num frasco com 2 ml de ácido clorídrico concentrado. Homogeneizar e medir a diurese. Tomar uma parte, centrifugar ou filtrar e diluir a 1:10 em água destilada (1 ml de urina + 9 ml de água destilada). Processar da mesma forma que na descrição de PROCEDIMENTO.

b) Aditivos: quando a amostra utilizada for plasma, recomenda-se o uso dos Anticoagulante W ou TP da Wiener lab. para sua obtenção.

c) Substâncias interferentes conhecidas:

- Não se observam interferências por bilirrubina até 58 mg/l.

- A hemólise ou lipemia são causas de resultados errados. Recomenda-se processar um branco de amostras para evitar estas interferências.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

d) Estabilidade e instruções de armazenamento: soro ou plasma devem ser separados dos glóbulos vermelhos dentro de 2 horas após sua extração, pois os eritrócitos contém fosfatos orgânicos lábeis que podem conduzir resultados falsamente elevados.

O fósforo inorgânico é estável no soro por 8 horas a temperatura ambiente, ou 7 dias sob refrigeração (2-10°C).

Urina de 24 horas é estável 7 dias sob refrigeração (2-10°C).

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro
- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.
- Cubetas espectrofotométricas
- Relógio ou cronômetro

CONDIÇÕES DE REAÇÃO

- Comprimento de onda: 340 nm (Hg 334 ou 366 nm)
- Temperatura da reação: temperatura ambiente
- Tempo de reação: 10 minutos
- Volume de amostra: 10 ul
- Volume de reação final: 1,01 ml

PROCEDIMENTO

Em três cubetas marcadas B (Branco), P (Padrão) e D (Desconhecido); colocar:

	B	P	D
Padrão	-	10 ul	-
Amostra	-	-	10 ul
Reagente A	1 ml	1 ml	1 ml

Incubar 10 minutos a temperatura ambiente. Logo após, ler em espectrofotômetro a 340 nm (Hg 334 ou 366 nm), levando o aparelho a zero com o Branco.

ESTABILIDADE DA MISTURA DE REAÇÃO FINAL

A reação final é estável 20 minutos, portanto a absorvância deve ser lida neste intervalo de tempo.

CÁLCULO DOS RESULTADOS

Soro ou plasma:

Fósforo inorgânico (Pi) (mg/dl) = D x f

$$\text{onde } f = \frac{4 \text{ mg/dl}}{P}$$

Urina:

$$\text{Pi (g/24 horas)} = \frac{D}{P} \times 0,040 \times 10 \times V = \frac{D}{P} \times 0,4 \times V$$

onde:

0,040 g/l = 4 mg/dl = concentração do Padrão

10 = fator de diluição

V = volume da diurese expressada em litros/24 horas

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Se a amostra a ensaiar for soro, processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Standatrol S-E 2 níveis**) com concentrações conhecidas de fósforo, com cada determinação. Se a amostra for urina, utilizar um controle baseado em urina.

VALORES DE REFERÊNCIA

Soro ou plasma

Adultos: 2,5 - 5,6 mg/dl

Esta faixa foi obtida a partir de amostras provenientes de 120

habitantes da cidade de Rosario (Argentina), pertencentes a ambos sexos (entre 20 e 45 anos), sem sintomas de doença da glândula paratiróide, renal ou hepática ou de deficiência de vitamina D.

Crianças: 4,0 - 7,0 mg/dl

Urina

0,3 - 1,0 g/24 horas

É recomendável que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

CONVERSÃO DE UNIDADES AO SISTEMA SI

Pi (mg/dl) x 0,323 = Pi (mmol/l)

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA.
- Todo o material de vidro utilizado (incluindo o da coleta da amostra) deve estar livre de fosfatos. Recomenda-se para a limpeza usar Noion da Wiener lab.
- Em caso de amostras ictericas, lipêmicas ou hemolisadas, para obter uma melhor performance nos resultados, deve-se processar um Branco de amostra com cada determinação utilizando solução fisiológica em lugar de reagente. Para efeito de cálculo, a absorvância deste Branco de Amostra deve ser subtraída da obtida do Desconhecido.

DESEMPENHO

Os ensaios foram realizados no analisador automático Express Plus^(*).

a) Reprodutibilidade: processando replicatas da mesma amostras no mesmo dia, foram obtidos os seguintes dados:

Nível	D.P.	C.V.
3,6 mg/dl	± 0,09 mg/dl	2,64 %
7,5 mg/dl	± 0,16 mg/dl	2,18 %

Processando a mesma amostra em diferentes dias, obteve-se o seguinte:

Nível	D.S.	C.V.
3,5 mg/dl	± 0,11 mg/dl	3,09 %
7,3 mg/dl	± 0,22 mg/dl	2,98 %

b) Recuperação: acrescentando quantidades conhecidas de fosfato inorgânico a distintas amostras obteve-se uma recuperação entre 98,4 e 103,5%.

c) Linearidade: a reação é linear até 16 mg/dl. No caso da obtenção de valores superiores de fosfato inorgânico, diluir a amostra a 1:2 com solução fisiológica e repetir a determinação multiplicando o resultado obtido por 2.

d) Limite de detecção: a menor mudança de concentração detectável será de 0,11 mg/dl.

PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Para a programação consultar o manual de uso do analisador a ser utilizado. Para a calibração deve-se utilizar **Calibrador A plus** da Wiener lab.

APRESENTAÇÃO

- 1 x 100 ml (Cód. 1382321).

- 4 x 20 ml (Cód. 1009311).

- 6 x 20 ml (Cód. 1009256).
- 6 x 20 ml (Cód. 1009614).
- 6 x 20 ml (Cód. 1009907)*.

REFERÊNCIA

- Henry, R.J.; Cannon, D.C.; Winkelman, J.W. - "Clinical Chemistry, Principles and Techniques" - Harper and Row, Publishers, 1974.
- Daly, J. A. and Ertingshausen - Clin. Chem. 18:263, 1972.
- Amador, E. and Urban, J. - Clin. Chem. 18:601, 1972.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

SÍMBOLOS

Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab.

 Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"

	Representante autorizado na Comunidade Europeia
	Uso médico-diagnóstico "in vitro"
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data de validade
	Limite de temperatura (conservar a)
	Não congelar
	Risco biológico
	Volume após a reconstituição
	Conteúdo
	Número de lote
	Elaborado por:
	Nocivo
	Corrosivo / Caústico
	Irritante
	Consultar as instruções de uso
	Calibrador
	Controle
	Controle Positivo
	Controle Negativo
	Número de catálogo



Fosfatemia

AA

UV method for the determination of inorganic phosphorus (iP) in serum, plasma or urine

SUMMARY

Phosphorus is found in the body forming part of organic compounds (proteins, lipids, carbohydrates, nucleic acids, etc.) or as inorganic phosphates, performing several functions (energy transport, tissue structure, pH control in body fluids). Bone and muscular tissues contain it as the main constituent and its participation in the nervous tissue formation is remarkable.

Its circulating concentration is regulated, among other factors, by vitamin D levels and endocrine glands. Physiologic variations are observed according to age, dietary habits, physical activity, pregnancy, etc. This balance may be altered by some pathological conditions, producing abnormalities in the circulating phosphorus concentration.

High levels of serum phosphorus are found on hypoparathyroidism, while hyperparathyroidism leads to the opposite situation. Hypervitaminosis D and several renal disorders may also cause hyperphosphatemia, while hypophosphatemia is related to vitamin D deficiencies and defects on phosphorus absorption at renal level.

PRINCIPLE

Inorganic phosphorus (IP) reacts in acid medium with molybdate to form a phosphomolybdic complex spectrophotometrically measured at 340 nm.

PROVIDED REAGENTS

A. Reagent A: 2 mmol/l ammonium molybdate solution in 1% sulfuric acid.

S. Standard*: stabilized phosphate solution equivalent to 4 mg/dl inorganic phosphorus.

NON-PROVIDED REAGENTS

Wiener lab.'s **Calibrador A plus**.

INSTRUCTIONS FOR USE

Provided Reagents: ready to use.

WARNINGS

Reagents are for "in vitro" diagnostic use.

The Reagent A is corrosive. H319: Causes serious eye irritation. H314: Causes severe skin burns and eye damage. P262: Do not get in eyes, on skin, or on clothing. P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. P302 + P352: IF ON SKIN: Wash

with plenty of soap and water. P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection. Contains sulfuric acid. Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories.

The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

Provided Reagents are stable at room temperature until the expiration date shown on the box.

INSTABILITY OR DETERIORATION OF REAGENTS

When spectrophotometer has been set to zero O.D. with distilled water, absorbance reading of Reagent A should not be over 0.500 O.D. Discard otherwise.

SAMPLE

Serum, plasma or urine

a) Collection: obtain serum in the usual way or plasma with EDTA or citrate.

Urine may also be tested. In this case, collect 24 hs urine in a recipient containing 2 ml concentrated hydrochloric acid. Homogenize and measure diuresis. Centrifuge or filter an aliquot and perform dilution 1:10 in distilled water (1 ml urine + 9 ml distilled water). Follow the instructions indicated under PROCEDURE.

b) Additives: if plasma is used as sample, the use of Wiener lab.'s **Anticoagulant W** or **TP** is recommended.

c) Known interfering substances:

- No interferences are observed from bilirubin up to 58 mg/l.
- The lipemic or hemolyzed samples may produce erroneous results. To avoid interference it is recommended to process a Sample Blank.

See Young, D.S. in References for effect of drugs on the present method.

d) Stability and storage instructions: separate serum or plasma from red blood cells within 2 hours from collection, since erythrocytes contain labile organic phosphates which may generate falsely increased results.

Inorganic phosphorus is stable in serum for 8 hours at room temperature. If sample is not assayed within this period, it can be refrigerated (2-10°C) up to 7 days.

The 24 hours urine is stable for 7 days refrigerated (2-10°C).

REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Spectrophotometer

- Micropipettes and pipettes for measuring stated volumes
- Spectrophotometric square cuvettes
- Watch or timer

ASSAY CONDITIONS

- Wavelength: 340 nm (Hg 334 or 366 nm)
- Reaction temperature: room temperature
- Reaction time: 10 minutes
- Sample volume: 10 ul
- Final reaction volume: 1.01 ml

PROCEDURE

In three cuvettes labeled B (Blank), S (Standard) and U (Unknown), add:

	B	S	U
Standard	-	10 ul	-
Sample	-	-	10 ul
Reagent A	1 ml	1 ml	1 ml

Incubate for 10 minutes at room temperature. Then read in spectrophotometer at 340 nm (Hg 334 or 366 nm), setting instrument to zero O.D. with blank.

STABILITY OF FINAL REACTION

Final reaction is stable for 20 minutes, thus absorbance should be read within that period.

CALCULATIONS

Serum or plasma:

Inorganic phosphorus (Pi) (mg/dl) = U x f

$$\text{where } f = \frac{4 \text{ mg/dl}}{S}$$

Urine:

$$\text{Pi (g/24 hours)} = \frac{U}{S} \times 0.040 \times 10 \times V = \frac{U}{S} \times 0.4 \times V$$

where:

0.040 g/l = 4 mg/dl = Standard concentration

10 = dilution factor

V = diuresis volume expressed in liters/24 hours

QUALITY CONTROL METHOD

Each time the test is performed, analyze two levels of a quality control material (**Standatrol S-E 2 niveles**) with known phosphorus concentration. If running urine samples, a urine-based control should be used.

SI SYSTEM UNITS CONVERSION

iP (mg/dl) x 0.323 = iP (mmol/l)

REFERENCE VALUES

Serum or plasma

Adults: 2.5 - 5.6 mg/dl

This range was obtained from samples of 120 individuals from Rosario (Argentina), from both sexes (between 20 and 45 years old), without presenting symptoms of parathyroid, renal or hepatic disease or vitamin D deficiency.

Children: 4.0 - 7.0 mg/dl

Urine

0.3 - 1.0 g/24 hours

However, each laboratory should establish its own references values.

PROCEDURE LIMITATIONS

- See Known interfering substances under SAMPLE.
- The glassware used (even for sample collection) should be free from phosphates. The use of Wiener lab.'s **Noion** is recommended for washing.
- The use of one Sample Blank is recommended with each test replacing the Reagent for saline solution, in order to achieve a better performance of results. This procedure is essential in case of icteric, turbid, lipemic or hemolyzed samples. Sample Blank absorbance must be subtracted from the Unknown absorbance to perform calculations.

PERFORMANCE

The assays were performed in an Express Plus analyzer^(*).

Level	S.D.	C.V.
3.6 mg/dl	± 0.09 mg/dl	2.64 %
7.5 mg/dl	± 0.16 mg/dl	2.18 %

Performing the same assay on different days, the following results were obtained:

Level	S.D.	C.V.
3.5 mg/dl	± 0.11 mg/dl	3.09 %
7.3 mg/dl	± 0.22 mg/dl	2.98 %

b) Recovery: when adding known amounts of inorganic phosphate to different samples, a recovery between 98.4 and 103.5% was obtained.

c) Linearity: reaction is linear up to 16 mg/dl. If higher values of inorganic phosphorus are obtained, sample must be diluted 1:2 with saline solution. Repeat testing multiplying the obtained result by 2.

d) Detection limit: the minimum detectable concentration change will be of 0.11 mg/dl.

PARAMETERS FOR AUTOANALYZERS

For programming instructions check the user manual of the autoanalyzer in use. For calibration use Wiener lab's **Calibrador A plus**, following the autoanalyzer requirements.

WIENER LAB. PROVIDES

- 100 ml (Cat. N° 1382321).
- 4 x 20 ml (Cat. N° 1009311).
- 6 x 20 ml (Cat. N° 1009256).
- 6 x 20 ml (Cat. N° 1009614).
- 6 x 20 ml (Cat. N° 1009907)*.

REFERENCES

- Henry, R.J.; Cannon, D.C.; Winkelman, J.W. - "Clinical

* CE mark pending

Chemistry, Principles and Techniques" - Harper and Row, Publishers, 1974.

- Daly, J. A. and Ertingshausen - Clin. Chem. 18:263, 1972.
- Amador, E. and Urban, J. - Clin. Chem. 18:601, 1972.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

SYMBOLS

The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits.

 This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices

 Authorized representative in the European Community

 "In vitro" diagnostic medical device

 Contains sufficient for <n> tests

 Use by

 Temperature limitation (store at)

 Do not freeze

 Biological risks

 Volume after reconstitution

 Contents

 Batch code

 Manufactured by:

 Harmful

 Corrosive / Caustic

 Irritant

 Consult instructions for use

 Calibrator

 Control

 Positive Control

 Negative Control

 Catalog number



Nr kat. 1382321 Nr kat. 1009614
Nr kat. 1009256 Nr kat. 1009907
Nr kat. 1009311

Metoda UV do oznaczania fosforu nieorganicznego (iP) w surowicy krwi, osoczu lub moczu

WSTĘP

Fosfor znajduje się w organizmie ludzkim zarówno jako składnik organiczny (białka, tłuszcze, węglowodany, kwasy nukleinowe itp.) jak i nieorganiczny (fosforany) spełniając liczne funkcje (przekazywanie energii, budowa tkanek, regulacja pH w płynach tkankowych). Stanowi główny składnik tkanki kostnej i mięśniowej, odgrywa również znaczącą rolę w budowie tkanki nerwowej. Krążenie fosforu jest uwarunkowane m.in. przez poziom witaminy D oraz gruczoły endokrynne. Fizjologiczne wahania poziomu fosforu obserwuje się w związku z dietą, zwyczajami żywieniowymi, aktywnością fizyczną, ciążą i in. Ta równowaga może zostać zachwiana przez kilka stanów chorobowych zmieniających poziom krążącego fosforu we krwi. Wysoki poziom fosforu we krwi występuje m.in.: w niedoczynności tarczycy podczas gdy nadczynność prowadzi do niskiego poziomu. Hyperwitaminoza D i niektóre zaburzenia nerek mogą również prowadzić do hiperfosfatemii. Natomiast niedobór witaminy D i nieprawidłowe wchłanianie w nerkach są związane z hypofosfatemią.

ZASADA DZIAŁANIA

W środowisku kwaśnym fosfor nieorganiczny (ang. Inorganic phosphorus IP) reaguje z molibdenianem tworząc kompleks fosfomolibdenianowy, który należy mierzyć spektrofotometrem przy długości fali 340 nm.

DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

A. Odczynnik A: 2 mmol/l roztwór molibdenianu amonu w 1% kwasie siarkowym.

S. Próba wzorcowa*: stabilizowany roztwór fosforanu odpowiadający 4 mg/dl fosforu nieorganicznego.

NIEDOSTARCZANE ODCZYNNIKI

Wiener lab.'s **Calibrador A plus**.

INSTRUKCJA UŻYCIA

Dostarczane odczynniki: gotowe do użycia.

OSTRZEŻENIA

Odczynniki do zastosowania w diagnostyce "in vitro". Odczynnik A jest żrący. H319: Działa drażniąco na oczy. H314: Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu. P262: Chronić przed kontaktem ze skórą, oczami i odzieżą. P305 + P351 + P338: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać. P302 + P352: W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ: Umyć dużą ilością wody z mydłem. P280: Stosować rękawice

ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy. Zawiera kwas siarkowy. Stosować odczynniki zgodnie z procedurami dla laboratoriów klinicznych. Odczynniki i materiał badany należy odrzucać zgodnie z lokalnymi przepisami.

TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Dostarczone odczynniki są trwałe w temperaturze pokojowej do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu.

BRAK TRWAŁOŚCI I POGORSZENIE JAKOŚCI ODCZYNNIKÓW

Przy nastawieniu spektrofotometru na zero O.D. na wodzie destylowanej, odczyt absorbancji dla Odczynnika A nie powinien przekraczać 0,500 O.D. W przeciwnym wypadku nie używać.

MATERIAŁ BADANY

Surowica, osocze lub mocz.

a) Pobranie: surowicę pobrać w klasyczny sposób lub osocze na EDTA lub cytrynian.

Badany może być również mocz. Należy wykonać 24 godzinną zbiórkę moczu do pojemnika zawierającego 2 ml stężonego kwasu hydrochlorowego. Poddać homogenizacji i zmierzyć diurezę. Odwirować lub przefiltrować jedną podwielokrotność, następnie rozcieńczyć 1:10 z wodą destylowaną (1 ml moczu + 9 ml wody destylowanej). Dalej postępować zgodnie z PROCEDURĄ.

b) Substancje dodatkowe: jeśli materiałem badanym jest osocze, zaleca się zastosowanie Wiener lab.'s Anticoagulant W lub TP.

c) Znane interakcje:

- Nie obserwuje się interakcji z bilirubiną do poziomu 58 mg/l.
- Wysoki poziom lipidów i hemoliza materiału mogą być przyczyną błędnych wyników. W celu uniknięcia interakcji zaleca się przeprowadzenie badania z Próbą ślepą. Sprawdź źródło: Young, D.S. w sprawie wpływu leków w tej metodzie.

d) Trwałość i instrukcja przechowywania: oddzielić surowicę lub osocze od erytrocytów w ciągu 2 godzin od pobrania materiału, ponieważ erytrocyty zawierają labilną frakcję organicznego fosforu i w konsekwencji mogą być przyczyną fałszywych podwyżek wyników. Nieorganiczny fosfor jest stabilny przez 8 godzin w temperaturze pokojowej. Jeśli materiał nie jest poddany analizie w ciągu 8 godzin, należy przechowywać go w lodówce w temperaturze (2-10°C) do 7 dni. 24 godzinna zbiórka moczu jest stabilna przez 7 dni w lodówce w temperaturze (2-10°C).

WYMAGANY MATERIAŁ I SPRZĘT (niedostarczany)

- Spektrofotometr,

- Mikropipety i pipety do pomiaru objętości,
- Kwadratowe kuwety do spektrofotometru,
- Zegarek lub stoper.

WARUNKI DLA PRZEPROWADZENIA TESTU

- Długość fali: 340 nm (Hg 334 lub 366 nm)
- Temperatura reakcji: temperatura pokojowa
- Czas reakcji: 10 minut
- Objętość materiału: 10 ul
- Końcowa objętość reakcji: 1,01 ml

PROCEDURA

W trzech kuwetach oznaczonych B (Próba Ślepa), S (Próba Wzorcowa) i U (Materiał nieznan) umieścić:

	B	S	U
Próba wzorcowa	-	10 ul	-
Materiał badany	-	-	10 ul
Odczynnik A	1 ml	1 ml	1 ml

Inkubować przez 10 minut w temperaturze pokojowej. Dokonać odczytu w spektrofotometrze przy wartości 340 nm (Hg 334 lub 366 nm), po wcześniejszym ustawieniu aparatu na zero O.D. na ślepej próbie.

TRWAŁOŚĆ KOŃCOWEJ REAKCJI

Końcowa reakcja jest trwała przez 20 minut, absorbancję należy odczytać w tym okresie czasu.

OBLICZENIA

Surowica lub osocze:

Nieorganiczny fosfor (Pi) (mg/dl) = U x f

$$\text{gdzie } f = \frac{4 \text{ mg/dl}}{S}$$

Mocz:

$$\text{Pi (g/24 hours)} = \frac{U}{S} \times 0,040 \times 10 \times V = \frac{U}{S} \times 0,4 \times V$$

gdzie:

0,040 g/l = 4 mg/dl = Stężenie Próby wzorcowej

10 = współczynnik rozcieńczenia

V = objętość diurezy wyrażona w litrach/24 godziny.

METODA KONTROLI JAKOŚCI

W trakcie przeprowadzania badania, należy przeprowadzić analizę na dwóch poziomach (**Standartol S-E 2 niveles**) ze znanym stężeniem fosforu. Jeśli materiałem badanym jest mocz, należy użyć próby kontrolnej opartej na moczu.

KONWERSJA JEDNOSTEK SI

iP (mg/dl) x 0.323 = iP (mmol/l)

WARTOŚCI REFERENCYJNE

Surowica lub osocze

Dorośli: 2,5 - 5,6 mg/dl

Zakres wartości otrzymano na podstawie materiału populacji 120 osób z Rosario (Argentyna), u mężczyzn i kobiet w przedziale wiekowym 20-45 lat, bez objawów chorobowych przytarzyc, nerek lub wątroby oraz bez cech niedoboru witaminy D.

Dzieci: 4,0 - 7,0 mg/dl

Mocz

0,3 - 1,0 g/24 godz.

Zaleca się aby każde laboratorium ustaliło własne zakresy i wartości referencyjne.

OGRANICZENIA PROCEDURY

- Zobacz ZNANE INTERAKCJE w rozdziale MATERIAŁ.
- Używany sprzęt szklany (również do zbiórki materiału) powinien być wolny od fosforanów. Do mycia zaleca się stosowanie Noion Wiener lab.
- Podczas każdego badania, dla poprawy jakości wykonania zaleca się zastosowanie jednej Ślepej Próby materiału badanego poprzez dodanie soli fizjologicznej zamiast Odczynnika. Taka procedura jest konieczna dla Materiału z lipemią, hemolizą, hiperbilirubinemią. Absorbancja Próby Ślepej musi być odjęta od absorbancji Próby nieznannej w celu dalszych obliczeń.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

Badania zostały przeprowadzone na analizatorze Express Plus[®].

a) Powtarzalność: przy powtórzeniach badania tego samego materiału w tym samym dniu, uzyskano następujące wyniki:

Poziom	S.D.	C.V.
3,6 mg/dl	± 0,09 mg/dl	2,64 %
7,5 mg/dl	± 0,16 mg/dl	2,18 %

Przeprowadzając to samo badanie w różnych dniach, uzyskano następujące wyniki:

Poziom	S.D.	C.V.
3,5 mg/dl	± 0,11 mg/dl	3,09 %
7,3 mg/dl	± 0,22 mg/dl	2,98 %

b) Odzyskiwanie: Po dodaniu znanych ilości fosforu nieorganicznego otrzymano odzysk pomiędzy 98,4 i 103,5%.

c) Linijność: reakcja jest linijna do wartości 16 mg/dl. Jeśli wartości fosforu nieorganicznego są wyższe, próbkę materiału badanego należy rozcieńczyć 1:2 roztworem soli fizjologicznej. Powtórzyć badanie i ostateczny wynik pomnożyć przez 2.

d) Granica wykrywalności: najmniejsze oznaczalna zmiana stężenia wynosi 0,11 mg/dl.

PARAMETRY DLA ANALIZATORÓW AUTOMATYCZNYCH

W celu programowania należy zapoznać się z podręcznikiem obsługi analizatora automatycznego. Do kalibracji użyć Wiener lab's **Calibrador A plus** zgodnie z parametrami danego analizatora automatycznego.

WIENER LAB. DOSTARCZA

- 100 ml (Nr kat. 1382321).
- 4 x 20 ml (Nr kat. 1009311).
- 6 x 20 ml (Nr kat. 1009256).
- 6 x 20 ml (Nr kat. 1009614).
- 6 x 20 ml (Nr kat. 1009907).

ŹRÓDŁA

- Henry, R.J.; Cannon, D.C.; Winkelman, J.W. - "Clinical Chemistry, Principles and Techniques" - Harper and Row, Publishers, 1974.
- Daly, J. A. and Ertingshausen - Clin. Chem. 18:263, 1972.
- Amador, E. and Urban, J. - Clin. Chem. 18:601, 1972.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

Oznaczenia

Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.

 Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

-  Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej
-  Wyrób do diagnostyki "in vitro"
-  Zawartość wystarczająca dla <n> badań
-  Użyć przed
-  Ograniczenie dopuszczalnych temperatur
-  Nie zamrażać
-  Ryzyko biologiczne
-  Objętość po rozpuszczeniu
-  Zawartość
-  numer serii
-  Wytwórca
-  Substancja szkodliwa
-  Substancja żrąca
-  Substancja drażniąca
-  Przed użyciem zapoznać się z instrukcją
-  Kalibrator
-  Próba kontrolna
-  Próba kontrolna dodatnia
-  Próba kontrolna ujemna
-  Numer katalogowy

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Cert. N°: 38/92



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina