



**BioTécnica**  
BIOTECNOLOGIA AVANÇADA



## Fósforo UV

Phosphorus UV | Fósforo UV  
Ref. 12.006.00

**Responsável Técnico:**  
Dr. Gilson Sérgio Pizzo  
CRF MG – 5310  
**MS 80027310203**

### FINALIDADE

Kit destinado à determinação de Fósforo no soro e urina. Uso em diagnóstico *in vitro*.

### CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E MANUSEIO

- Conservar de 2 a 8 °C.
- Manter ao abrigo da luz.
- Estável até a data de validade do kit que está impressa no rótulo da embalagem.
- Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.

### PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO

O fosfato inorgânico existente na amostra reage com o molibdato de amônio, em meio ácido, originando o complexo fosfomolibdato, que pode ser medido em 340 nm. A intensidade da cor é proporcional à concentração de fosfato inorgânico na amostra.

Fosfato inorgânico + molibdato de amônio  $\xrightarrow{H_2SO_4}$  Complexo Fosfomolibdato

### AMOSTRAS: TIPO, COLETA, MANUSEIO, PREPARO E PRESERVAÇÃO


**Tipo de Amostra:** Soro e urina.


**Coleta, manuseio e preparo:** Realizar a coleta da amostra conforme Boas Práticas de Laboratório Clínico. As amostras a serem analisadas devem ser tratadas como material potencialmente infectante. As amostras de soro devem ser separadas dos elementos celulares imediatamente.

**Preservação:** O fósforo no soro é estável por 1 dia se conservado em temperatura de 20-25°C, 4 dias em temperatura de 4 a 8 °C e 1 ano em temperatura de -20 °C. Na urina o fósforo é estável 2 dias se conservado em temperatura de 20 a 25 °C e 6 meses em temperatura de 4 a 8 °C, em pH < 5,0.

**Urina:** Utilizar amostra colhida no período de 24 horas em frasco contendo de 20 a 30mL de HCl 50% para prevenir a precipitação de fosfato. Homogeneizar bem, medir o volume, verificar o pH e se necessário ajustá-lo para abaixo de 3,0. Centrifugar amostras que contenham precipitados e utilizar o sobrenadante. Diluir uma alíquota da urina na proporção de 1:10 com água purificada (quando necessário, a diluição da urina deverá ser alterada para se obter resultado dentro do intervalo operacional do método). Utilizar a urina diluída para proceder ao ensaio. Multiplicar o resultado obtido por 10 (ou pelo fator que tiver sido aplicado).

### DESCRIÇÃO DO PRODUTO

<b>R 1</b>	Molibdato de amônio ≥ 0,5 mmol/L; Ácido sulfúrico ≥ 0,5% v/v; Triton X100 ≥ 0,1% v/v.	
------------	---	---

<b>STD</b>	Fosfato de sódio em concentração equivalente a 5,0 mg/dL, conservante. Rastreável ao material de referência NIST 3139a.	
------------	--	--

### ESTABILIDADE EM USO

- A estabilidade do produto (R1 e STD) em uso é de 24 meses, desde que seguidas às condições de armazenamento recomendadas (2 a 8°C).
- Os reagentes devem permanecer fora da temperatura especificada somente o tempo necessário para a realização dos testes.

### TRATAMENTO E MANUSEIO DO PRODUTO

**A) PREPARAÇÃO DOS REAGENTES**  
R1 e STD: Prontos para uso.

**B) INTERVALO OPERACIONAL**

**Soro:** 0,35 mg/dL a 15,00 mg/dL.  
Para valores superiores, diluir a amostra com NaCl 150 mM (0,9%), realizar nova dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.  
**Urina:** 6,86 mg/dL a 233,85 mg/dL, corrigido pelo fator de diluição.

### CONTROLE DE QUALIDADE

O uso de controles deve ser prática rotineira no laboratório. Sugere-se usar um controle na faixa de referência ou no nível de decisão e outro controle com valor em outra faixa de significância clínica. Para Calibração e Controle Interno de Qualidade Laboratorial recomenda-se o uso do soro calibrador e dos soros controles abaixo:

Soro Calibrador - Autocal H	13.002.00
Soro Controle Normal - Quantinorm	13.003.00
Soro Controle Patológico - Quantial	13.004.00

**REF**

### PROCEDIMENTO DE ENSAIO, CÁLCULOS E INTERPRETAÇÃO

#### A) PROCEDIMENTO DE ENSAIO

1. Pipetar em tubos de ensaio:

	Branco	Padrão	Amostra
STD	-	10 µL	-
Amostra	-	-	10 µL
R1	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

2. Homogeneizar bem e incubar os tubos durante 5 minutos a 37 °C.
3. Medir a absorbância do Padrão e da Amostra frente ao Branco de reagente em 340 nm. A cor final da reação é estável por 60 minutos.

#### B) CÁLCULOS

**Soro:**  
Fósforo (mg/dL) =  $\frac{\text{Absorbância da Amostra}}{\text{Absorbância do Padrão}} \times \text{Concentração Padrão (mg/dL)}$

**Exemplo:**  
Concentração do Padrão = 5,0 mg/dL  
Absorbância da Amostra = 0,225  
Absorbância do Padrão = 0,252  
Fósforo (mg/dL) =  $\frac{0,225}{0,252} \times 5,0 = 4,46$  mg/dL

**Com Fator de Calibração:**  
Fator de Calibração =  $\frac{\text{Concentração do Padrão (mg/dL)}}{\text{Absorbância do Padrão}}$

Fósforo (mg/dL) = Absorbância da amostra x Fator de Calibração  
**Exemplo:**  
Fator de Calibração =  $\frac{5,0}{0,252} = 19,8$   
Fósforo (mg/dL) = 0,225 x 19,8 = 4,46 mg/dL

**Urina de 24 horas:**  
Fósforo urina (mg/dL) =  $\frac{\text{Absorbância da Amostra}}{\text{Absorbância do Padrão}} \times \text{Concentração Padrão (mg/dL)} \times 10^*$

\*10 = Fator de diluição aplicado.  
Fósforo urina (mg/24 horas) =  $\frac{\text{Fósforo urina (mg/dL)} \times \text{volume urinário de 24 horas (em mL)}}{100}$

#### C) INTERPRETAÇÃO

O fosfato inorgânico encontra-se localizado no osso na forma de hidroxiapatita. No líquido extracelular, o fósforo ocorre como fosfato inorgânico e em pequenas quantidades como fosfato orgânico na forma de fosfolípidos. O fosfato orgânico encontra-se nas células como fosfolípidos, ácidos nucleicos e trifosfato de adenosina - ATP. O mecanismo de regulação dos níveis dos íons fósforo e cálcio no sangue são influenciados pelas interações entre o paratormônio e a vitamina D. O fósforo está aumentado no soro em casos de insuficiência renal, hipoparatiroidismo, resistência ao paratormônio e acromegalia. Sua diminuição ocorre na deficiência de vitamina D, hiperparatiroidismo e síndrome de Fanconi.

#### INTERFERÊNCIAS OU LIMITAÇÕES

**Hemólise, Ictericia e Lipemia:**  
**Soro:** Hemoglobina > 200 mg/dL / Bilirrubina > 40 mg/dL / Triglicérides > 350 mg/dL.  
**Urina:** Hemoglobina > 180 mg/dL / Bilirrubina > 20 mg/dL.

**Medicamentos:** consultar referência bibliográfica recomendada (Young, 2000).

#### CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

**Sensibilidade:**  
**Soro:** Limite de detecção: 0,08 mg/dL / Limite de quantificação: 0,35 mg/dL.  
**Urina:** Limite de detecção: 0,050 mg/dL / Limite de quantificação: 6,86 mg/dL, corrigidos pelo fator de diluição.

**Especificidade Analítica:** O produto determina especificamente fósforo na presença de outras substâncias interferentes na amostra, até as concentrações informadas acima.

**Exatidão:**  
**Soro:** O método foi comparado com método similar pela determinação de 40 amostras em duplicata. Foi obtida a equação de regressão y = 0,989x + 0,069 e coeficiente de correlação r=0,9943. Utilizando esta equação o erro sistemático total estimado de 1,20% para um nível de 3,00 mg/dL e 0,28% para um nível de 5,00 mg/dL.

**Urina:** O método foi comparado com método similar pela determinação de 20 amostras em duplicata. Foi obtida a equação de regressão y = 1,006x - 2,703 e coeficiente de correlação r=0,9995. Utilizando esta equação o erro sistemático total estimado de -0,17% para um nível de 350,0 mg/24hs e 0,29% para um nível de 900,0 mg/24hs.

**Precisão:**

**Soro:** Foi determinada utilizando amostras em 03 níveis de decisão, sendo duas corridas em duplicata por dia durante 20 dias, sendo obtido:

Amostras (mg/dL)	Repetições	Precisão intra-corrida		Precisão total	
		SD (mg/dL)	%CV	SD (mg/dL)	%CV
3,64	80	0,0414	1,1	0,0522	1,4
7,61	80	0,0063	0,1	0,0924	1,2
14,53	80	0,0793	0,5	0,1266	0,9

**%CV:** Coeficiente de variação expresso em porcentagem; **SD:** Desvio Padrão  
**Urina:** Foi determinada utilizando amostras em 02 níveis de decisão, sendo duas corridas em duplicata por dia durante 20 dias, sendo obtido:

Amostras (mg/dL)	Repetições	Precisão intra-corrida		Precisão total	
		SD (mg/dL)	%CV	SD (mg/dL)	%CV
26,93	80	0,18	0,7	0,22	0,8
87,76	80	0,38	0,4	0,58	0,7

**%CV:** Coeficiente de variação expresso em porcentagem; **SD:** Desvio Padrão

#### RISCOS RESIDUAIS, CUIDADOS E PRECAUÇÕES

- Utilizar os EPI's de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico.
- Não misturar reagentes de lotes diferentes.
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada.
- Não usar o reagente quando este apresentar característica visual em desacordo com o especificado na FISPQ do produto.
- Evitar deixar os reagentes fora das condições de armazenamento especificadas, quando os mesmos não estiverem em uso.
- Usar pipetas de vidro e ponteiros descartáveis específicas para cada amostra, controle, padrão/calibrador e reagente.
- O nível de água do banho-maria deve ser superior ao dos tubos de ensaio que contém as reações.
- O laboratório deve estabelecer os requisitos químicos, microbiológicos e de partículas para a água antes do seu uso para cada uma das suas aplicações e deve definir as especificações ou tipos de água que os atenda. Uma vez que a pureza necessária tenha sido definida, o sistema de purificação deve ser validado e é importante garantir que a água obtida continue a atender às especificações por meio de verificações periódicas.
- A limpeza e secagem adequadas do material usado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.

#### INTERVALO DE REFERÊNCIA

	Soro	Urina
Adultos	2,5 - 4,5 mg/dL	400 - 1300 mg/24 horas
Crianças	4,0 - 7,0 mg/dL	

Estes valores são unicamente para orientação, sendo recomendável que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.  
Conversão para Unidade do Sistema Internacional (SI): mmol/L  
Fósforo (mg/dL) x 0,323 = Fósforo (mmol/L)

#### MATERIAL NECESSÁRIO PARA REALIZAÇÃO DO ENSAIO

- Espectrofotômetro ou fotômetro para leitura em 340 nm.
- Banho-maria mantido a temperatura constante (37 °C).
- Pipetas de vidro e/ou automáticas.
- Relógio ou Cronômetro.
- Tubos de ensaio.

#### ALERIAS E PRECAUÇÕES COM RELAÇÃO AO DESCARTE DO PRODUTO

- As informações de Descarte, Segurança e Primeiros Socorros estão descritas na Ficha Individual de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) deste produto, disponível em [www.biotechica.ind.br](http://www.biotechica.ind.br) ou pelo telefone (35)-3214-4646.
- Descartar as sobras das reações de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico (BPLC) e Programa de Gerenciamento de Resíduos de Serviço de Saúde (PGRSS).

#### GARANTIA DE QUALIDADE / SAC - SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes Biotécnica são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições especificadas. Os dados relativos ao Controle de Qualidade deste produto (lote impresso nas etiquetas dos frascos de reagentes) ou qualquer dúvida na utilização deste kit, entrar em contato com a Assessoria Científica da Biotécnica

Ltda, através do telefone +55 35 3214 4646 ou pelo email [sac@biotechincaltda.com.br](mailto:sac@biotechincaltda.com.br)

#### AUTOMAÇÃO

Este procedimento é automatizável na maioria dos analisadores. Os protocolos estão disponíveis em [www.biotechica.ind.br](http://www.biotechica.ind.br)

#### ENGLISH

**INTENDED USE**  
Kit for determination of phosphorus in serum and urine. Use in vitro diagnostic.

#### STORAGE AND HANDLING

- Store at 2 to 8 °C.
- Keep out of the light.
- Stable up to the expiration date of the kit that is printed on the package label.
- Do not use reagents whose expiration date has expired.

#### WORKING PRINCIPLE



The inorganic phosphate in the sample reacts with the ammonium molybdate in an acid medium, giving rise to the phosphomolybdate complex, which can be measured at 340 nm. The color intensity is proportional to the concentration of inorganic phosphate in the sample.

Inorganic phosphate + ammonium molybdate  $\xrightarrow{H_2SO_4}$  Phospho-molybdenum complex

#### SAMPLES: TYPE, COLLECTION, HANDLING, PREPARATION AND PRESERVATION

**Sample Type:** Serum and Urine.  
**Collection, handling and preparation:** Perform the sample collection according to Good Clinical Laboratory Practice. The samples to be analyzed should be treated as potentially infectious material. Serum samples should be separated from the cell elements immediately.  
**Preservation:** in the serum phosphorus is stable for 1 day if stored at 20-25 °C, 4 days at 4 to 8 °C and 1 year at -20 °C. In urine the phosphorus is stable for 2 days if stored at 20 to 25 °C and 6 months at 4 to 8 °C at pH <5.0.  
**Urine:** Use sample collected within 24 hours in a vial containing 20 to 30 mL of HCl 50% to prevent phosphate precipitation. Mix well, measure the volume, check the pH and if necessary adjust it to below 3.0. Centrifuge samples containing precipitates and use the supernatant. Dilute an aliquot of urine in the proportion of 1:10 with purified water (where necessary, dilution of the urine should be altered to achieve a result within the operating range of the method). Use diluted urine for testing. Multiply the result obtained by 10 (or by the factor that has been applied).

#### PRODUCT DESCRIPTION

<b>R 1</b>	Ammonium molybdate ≥ 0.5 mmol/L; Sulfuric acid ≥ 0.5% v/v; Triton X100 ≥ 0.1% v/v.	
<b>STD</b>	Sodium phosphate in concentration equivalent to 5.0 mg/dL, preservative. Traceable to reference material NIST 3139a.	

#### STABILITY IN USE

- The stability of the product (R1 and STD) in use is 24 months, since the recommended storage conditions (2 to 8 °C).
- Reagents should remain outside the specified temperature only for the time required to perform the tests.

#### TREATMENT AND HANDLING OF THE PRODUCT TECHNICAL PROCEDURE

**A) REAGENT PREPARATION**  
R1 and STD: Ready for use.

**B) OPERATING INTERVAL**  
**Serum:** 0.35 mg dL to 15.00 mg/dL.  
For higher values, dilute the sample with 150 mM NaCl (0.9%), carry out a new dosage and multiply the result obtained by the dilution factor.  
**Urina:** 6.86 mg / dL at 233.85 mg / dL, corrected for dilution factor

#### QUALITY CONTROL

The use of controls should be routine practice in the laboratory. It is suggested to use one control in the reference range or at the decision level and another control with value in another range of clinical significance. For Calibration and Internal Quality Control Laboratory it is recommended to use the calibrator serum and the control sera below:

Serum Calibrator - Autocal H	13.002.00
Normal Control Serum - Quantinorm	13.003.00
Serum Pathological Control - Quantial	13.004.00

**REF**

#### TEST PROCEDURE, CALCULATION AND INTERPRETATION

**A) TEST PROCEDURE**  
1. Pipette in the assay tubes:

	Blank	Standard	Sample
STD	-	10 µL	-
Sample	-	-	10 µL
R1	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

2. Homogenize and incubate 5 minutes at 37 °C.
3. Measure the absorbance of the Standard and the Sample against the reagent Blank at 340 nm. The final color of the reaction is stable for 60 minutes.

#### B) CALCULATIONS

**Serum:**  
Phosphorus (mg/dL) =  $\frac{\text{Sample Absorbance} \times \text{Standard Concentration (mg/dL)}}{\text{Standard Absorbance}}$

**Exemplo:**  
Standard Concentration = 5.0 mg / dL  
Sample Absorbance = 0.225  
Standard Absorbance = 0.252  
Phosphorus (mg/dL) =  $\frac{0.225 \times 5.0}{0.252} = 4.46$  mg / dL

**With Calibration Factor:**

Calibration Factor =  $\frac{\text{Standard Concentration (mg/dL)}}{\text{Standard Absorbance}}$

Phosphorus (mg/dL) = Sample Absorbance x Calibration Factor

**Example:**

Calibration Factor =  $\frac{5,0}{0,252} = 19,8$

Phosphorus (mg / dL) = 0.225 x 19.8 = 4.46 mg/dL

**24-hour urine:**

Phosphorus Urine (mg/dL) =  $\frac{\text{Sample Absorbance} \times \text{Standard Concentration (mg / dL)} \times 10^*}{\text{Standard Absorbance}}$

\* 10 = Dilution factor applied.

Phosphorus urine (mg/24 hours) =  $\frac{\text{Phosphorus urine (mg/dL)} \times 24\text{-hour urine volume (in mL)}}{100}$

**C) INTERPRETATION**

Inorganic phosphate is located in the bone in the form of hydroxyapatite. In the extracellular fluid, phosphorus occurs as inorganic phosphate and in small amounts as organic phosphate in the form of phospholipids. Organic phosphate is found in cells such as phospholipids, nucleic acids and adenosine triphosphate - ATP. The mechanism of regulation of the levels of phosphorus and calcium ions in the blood are influenced by the interactions between parathyroid hormone and vitamin D. Phosphorus is increased in serum in cases of renal failure, hypoparathyroidism, resistance to parathyroid hormone and acromegaly. Its decrease occurs in vitamin D deficiency, hyperparathyroidism and Fanconi's syndrome

**INTERFERING AND LIMITATIONS****Hemolysis, Jaundice and Lipemia:**

Serum: Hemoglobin > 200 mg/dL / Bilirubin > 40 mg/dL / Triglycerides > 350 mg/dL.

Urine: Hemoglobin > 180 mg/dL / Bilirubin > 20 mg/dL.

Medicines: consult recommended literature reference (Young, 2000).

**PERFORMANCE CHARACTERISTICS****Sensitivity:**

Serum: Detection limit: 0.08 mg/dL / Limit of quantification: 0.35 mg/dL.

Urine: Limit of detection: 0.050 mg/dL / Limit of quantification: 6.86 mg/dL, corrected by dilution factor.

**Analytical Specificity:** The product specifically determines phosphorus in the presence of other interfering substances in the sample, up to the concentrations reported above.

**Accuracy:**

Serum: The method was compared with a similar method by the determination of 40 samples in duplicate. The regression equation  $y = 0,989x + 0,069$  and correlation coefficient  $r = 0,9943$  was obtained. Using this equation the estimated total systematic error of 1.20% for a level of 3.00 mg/dL and 0.28% for a level of 5.00 mg/dL

Urine: The method was compared with a similar method by the determination of 20 samples in duplicate. The regression equation  $y = 1,006x - 2,703$  and correlation coefficient  $r = 0,9995$  was obtained. Using this equation, the total systematic error estimated was -0.17% for a level of 350.0 mg/24hs and 0.29% for a level of 900.0 mg/24hs.

**Precision:**

Serum: It was determined using samples at 03 decision levels, two runs in duplicate per day for 20 days, being obtained.

Samples (mg/dL)	Repetitions	Within-Run Precision		Total Precision	
		SD (mg/dL)	%CV	SD (mg/dL)	%CV
3,64	80	0,0414	1,1	0,0522	1,4
7,61	80	0,0063	0,1	0,0924	1,2
14,53	80	0,0793	0,5	0,1266	0,9

% CV: Coefficient of variation expressed as a percentage; SD: Standard Deviation

Urine: It was determined using samples at 02 decision levels, two runs in duplicate per day for 20 days, being obtained:

Samples (mg/dL)	Repetitions	Within-Run Precision		Total Precision	
		SD (mg/dL)	%CV	SD	%CV
26,93	80	0,18	0,7	0,22	0,8
87,76	80	0,38	0,4	0,58	0,7

% CV: Coefficient of variation expressed as a percentage; SD: Standard Deviation

**RESIDUAL RISK, WARNINGS AND PRECAUTIONS**

- Use Protective Equipment in accordance with Good Laboratory Practice.
- Do not mix reagents from different lots.
- Do not exchange the caps from different reagents in order to avoid cross contamination.
- Do not use the reagent if it displays any sign in disagreement with the one specified in the product MSDS.
- Avoid leaving reagents outside the specified storage conditions, when they are not in use.
- Use glass pipettes and disposable tips for each sample, control, standard / calibrator and reagent.
- The level of the water bath must be greater than the test tubes containing the reaction.
- The laboratory should establish chemical, microbiological and particulates requirements for the water prior to its use for each of its applications and must define the specifications or types of water that meets them. Once the required purity has been set, the purification system must be validated and it is important to ensure that the resulting water continues to meet specifications by means of periodic checks.
- The cleaning and drying of the lab material are fundamental factors for the stability of the reagents and reaching correct results.

**REFERENCE RANGES**

	Serum	Urine
Adults	2,5 - 4,5 mg/dL	400 - 1300 mg/24 horas
Children	4,0 – 7,0 mg/dL	

These values are intended for orientation only. It's recommended that each lab establishes its own reference ranges.

Conversion for International System of Units (SI): mmol/L

Phosphorus (mg/dL) x 0,323 = Phosphorus (mmol/L)

**ADDITIONAL EQUIPMENT**

- Spectrophotometer or photometer able to read at 340 nm
- Thermostatic water bath at 37°C.
- Glass Pipettes and/or automatic.
- Clock or chronometer.
- Assay tubes

**WARNINGS AND PRECAUTIONS**

- Discard the reactions surplus according to Good Laboratory Practice in a proper place for potentially infective material.
- The information for Disposing, Security and First Aid are described in the Manual Safety Data Sheet (MSDS) of this product available at [www.biotecnica.ind.br](http://www.biotecnica.ind.br) or calling for 55-35-3214-4646

**QUALITY ASSURANCE / CUSTOMER TECHNICAL SERVICE**

Before being approved for use BioTécnica reagents are tested in the Quality Control Department. The quality of the reagents is assured up to the expiring date stated in the label of the external packaging, since it is stored and transported in the specified conditions. The quality control data concerning this product (batch printed on the labels of reagent bottles) or any technical doubt on handling this product or this procedure, contact us calling +55 35 3214 4646, your local distributor or sending an e-mail: [sac@biotecnica.com.br](mailto:sac@biotecnica.com.br)

**AUTOMATION**

This procedure is automated in most analyzers. The applications are available at [www.biotecnica.com.br](http://www.biotecnica.com.br)

**ESPANOL****FINALIDAD**

Kit destinado a la determinación de Fósforo en suero u orina. Uso en diagnóstico *in vitro*.

**CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD**

- Conservar de 2 a 8 °C.
- Mantener al abrigo de la luz.
- Estable hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.
- No usar reactivos cuya fecha de vencimiento haya expirado.

**PRINCIPIO DEL MÉTODO**

El fósforo inorgánico reacciona con molibdato de amonio, en medio ácido, originando un complejo fosfomolibdico con máximo de absorción en 340 nm. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de fósforo inorgánico en la muestra.

Fósforo inorgánico + molibdato de amonio  $\xrightarrow{H_2SO_4}$  Complejo Fosfomolibdato

**MUESTRAS: TIPO, RECOLECCIÓN, MANIPULACIÓN, PREPARACIÓN Y CONSERVACIÓN**

**Tipo de muestra:** suero u orina

**Recolección, manipulación y preparación:** Realizar la recolección de muestras de acuerdo con las Buenas Prácticas del Laboratorio Clínico. Las muestras analizadas deben ser tratadas como material potencialmente infectantes. Separar el suero de los elementos celulares inmediatamente.

**Conservación:** el fósforo en suero es estable 1 día almacenado a temperaturas de 20-25 ° C, 4 días conservado en temperatura de 4 a 8 ° C y 1 año a -20 ° C. En la orina, el fósforo es estable 2 días almacenado a temperaturas de 20 a 25 ° C y 6 meses de 4 a 8 ° C, en pH < 5,0.

**Orina:** Utilizar muestras recogidas en un periodo de 24 horas en frasco contenido de 20 a 30 mL de HCl 50%, para evitar la precipitación de fosfato. Homogeneizar bien la orina y medir el volumen, verificar el pH y si necesario ajustar para pH <3. Centrifugar las muestras que contengan precipitados y utilizar el sobrenadante. Diluir una alícuota de orina en la proporción de 1:10 con agua purificada (cuando necesario, la dilución puede ser alterada para obtener un resultado dentro del intervalo operacional del método). Realizar el ensayo y multiplicar por el factor de dilución utilizado.

**DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO****R 1**

Molibdato de amonio  $\geq$  0,5 mmol/L; Ácido sulfúrico  $\geq$  0,5% v/v; Triton X100  $\geq$  0,1% v/v.

**STD**

Fosfato de sodio en concentración equivalente a 5,0 mg/dL, conservante. Rastrear al material de referencia NIST 3139a.

**ESTABILIDAD EN USO**

- La estabilidad del producto (R1 y STD) en uso es de 24 meses, almacenados en las condiciones recomendadas (2 a 8°C).
- Los reactivos deben permanecer fuera de la temperatura especificada solamente el tiempo necesario para la realización de los ensayos.

**INSTRUCCIONES PARA USO****A) PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS**

R 1 y STD: Reactivos listos para uso

**B) INTERVALO OPERACIONAL**

Suero: 0,35 mg/dL a 15,00 mg/dL.

Para valores superiores, diluir la muestra con NaCl 150 mM (0,9%), realizar nuevo ensayo y multiplicar el resultado por el factor de dilución.

Orina: 6,86 mg/dL a 233,85 mg/dL corregido por el factor de dilución.

**CONTROL DE CALIDAD**

El uso de controles debe ser práctica rutinaria en el laboratorio. Se sugiere usar un control en el intervalo de referencia o decisión y otro con valor de significado clínico. Para Calibración y Control Interno de Calidad del Laboratorio se recomienda el uso de los siguientes sueros:

Suero Calibrador - Autocal H

Suero Control Normal - Quántimom

**REF**

13.002.00  
13.003.00

Suero Control Patológico - Quantilab

13.004.00

**PROCEDIMIENTO DE ENSAYO, CÁLCULOS E INTERPRETACIÓN****A) PROCEDIMIENTO DE ENSAYO**

1. Pipetear en tubos de ensayo:

	Blanco	Standard	Muestra
STD	-	10 µL	-
Muestra	-	-	10 µL
R1	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

2. Mezclar bien, cuidadosamente, e incubar durante 5 minutos a 37 °C.

3. Medir la absorbancia del Standard y de la Muestra frente al Blanco de reactivo a 340 nm. El color es estable durante 60 minutos.

**B) CÁLCULOS****Suero:**

Fósforo (mg/dL) =  $\frac{\text{Absorbancia de la Muestra} \times \text{Concentración Standard (mg/dL)}}{\text{Absorbancia del Standard}}$

**Con Factor de Calibración:**

Factor de Calibración =  $\frac{\text{Concentración Standard (mg/dL)}}{\text{Absorbancia del Standard}}$

Fósforo (mg/dL) = Absorbancia de la muestra x Factor de Calibración

**Orina de 24 horas:**

Fósforo orina (mg/dL) =  $\frac{\text{Absorbancia de la Muestra} \times \text{Concentración Standard (mg/dL)} \times 10^*}{\text{Absorbancia del Standard}}$

\* 10 = Factor de dilución aplicado.

Fósforo orina (mg/24 horas) =  $\frac{\text{Fósforo orina (mg/dL)} \times \text{volumen urinario de 24 horas (en mL)}}{100}$

**C) INTERPRETACIÓN**

El fosfato inorgánico es el principal componente de la hidroxapatita en el hueso. En el líquido extracelular, se encuentra como fosfato inorgánico y en pequeñas cantidades como fosfato orgánico en los fosfolípidos. En las células, el fosfato orgánico forma parte de los fosfolípidos, ácidos nucleicos y trifosfato de adenosina - ATP. El mecanismo de regulación de los niveles de los iones fósforo y calcio en sangre, es influenciado por las interacciones entre el paratormonio y la vitamina D. El fósforo está aumentado en suero en los casos de insuficiencia renal, hipoparatiroidismo, resistencia al paratormonio y acromegalia. Disminuye en la deficiencia de vitamina D, hiperparatiroidismo y síndrome de Fanconi.

**INTERFERENTES O LIMITACIONES****Hemólisis, Ictericia e Lipemia:**

Suero: Hemoglobina > 200 mg/dL, Bilirubina > 40 mg/dL, Triglicéridos > 350 mg/dL.

Orina: Hemoglobina > 180 mg/dL, Bilirubina > 20 mg/dL.

**Medicamentos:** consultar la referencia recomendada (Young, 2000).

**CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO****Sensibilidad:**

Suero: Limite de detección: 0,08 mg/dL / Limite de cuantificación: 0,35 mg/dL.

Orina: Limite de detección: 0,050 mg/dL / Limite de cuantificación: 6,86 mg/dL corregido por el factor de dilución.

**Especificidad Analítica:** El producto determina específicamente fósforo ante la presencia de otras sustancias interferentes en la muestra, hasta las concentraciones indicadas anteriormente.

**Exactitud:**

Suero: El método fue comparado con otro similar determinando 40 muestras en duplicado. Fue obtenida la ecuación de regresión  $y = 0,989x + 0,069$  con un coeficiente de correlación  $r = 0,9943$ . Utilizando esta ecuación el error sistemático total es de 1,20% para un nivel de 3,00 mg/dL y de 0,28% para un nivel de 5,00 mg/dL.

Orina: El método fue comparado con otro similar determinando 20 muestras en duplicado. Fue obtenida la ecuación de regresión  $y = 1,006x - 2,703$  con un coeficiente de correlación  $r = 0,9995$ . Utilizando esta ecuación el error sistemático total es de -0,17% para un nivel de 350,0 mg/24h y de 0,29% para un nivel de 900,0 mg/24h.

**Precisión:**

Suero: Fue determinada utilizando muestras en 3 niveles de decisión, en dos determinaciones diarias en duplicado durante 20 días, con los siguientes resultados:

Muestras (mg/dL)	Repeticiones	Precisión intra-corrida		Precisión total	
		SD (mg/dL)	%CV	SD (mg/dL)	%CV
3,64	80	0,0414	1,1	0,0522	1,4
7,61	80	0,0063	0,1	0,0924	1,2
14,53	80	0,0793	0,5	0,1266	0,9

%CV: Coeficiente de variación expreso en porcentaje; SD: Desviación Estándar

Orina: Fue determinada utilizando muestras en 2 niveles de decisión, en dos determinaciones diarias en duplicado durante 20 días, con los siguientes resultados:

Muestras (mg/dL)	Repeticiones	Precisión intra-corrida		Precisión total	
		SD (mg/dL)	%CV	SD (mg/dL)	%CV
26,93	80	0,18	0,7	0,22	0,8
87,76	80	0,38	0,4	0,58	0,7

%CV: Coeficiente de variación expreso en porcentaje; SD: Desvio Padrão

**RIESGOS RESIDUALES, CUIDADOS E PRECAUCIONES**

- Utilizar los EPI's de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio Clínico.
- No mezclar reactivos de lotes diferentes.
- No cambiar las tapas de los frascos de los reactivos, a fin de evitar contaminación cruzada.
- No usar el reactivo cuando presente característica visual en desacuerdo con lo especificado en la FISPQ del producto.
- Evitar dejar los reactivos fuera de las condiciones de almacenamiento especificadas, cuando los mismos no estén en uso.
- Usar pipetas de vidrio y punteras desechables específicas para cada muestra, control, Standard/calibrador y reactivo.
- El nivel de agua del baño maría debe ser superior al de los tubos de ensayo que contienen las reacciones.

- Cada laboratorio debe establecer requisitos químicos, microbiológicos y de partículas para el agua antes de su uso en cada una de sus aplicaciones y definir las especificaciones o tipos de agua que atiendan sus requisitos. Una vez que la pureza requerida fue establecida, el sistema de purificación debe ser validado y es importante para asegurar que el agua resultante continúa atendiendo las especificaciones implementar controles periódicos.
- La limpieza y secado adecuados del material utilizado son factores fundamentales para la estabilidad de los reactivos y obtención de resultados correctos.

**INTERVALO DE REFERENCIA**

	Suero	Orina
Adultos	2,5 - 4,5 mg/dL	400 - 1300 mg/24 horas
Niños	4,0 – 7,0 mg/dL	

Estos valores son únicamente para orientación, siendo recomendable que cada laboratorio establezca su propio intervalo de referencia.

Conversión para la Unidad del Sistema Internacional (SI): mmol/L

Fósforo (mg/dL) x 0,323 = Fósforo (mmol/L)

**MATERIAL NECESARIO PARA REALIZAR EL ENSAYO**

- Espectrofotómetro o fotómetro para lectura en 340 nm.
- Baño de agua, termostabilizado a 37 °C.
- Pipetas de vidrio y/o automáticas.
- Reloj o Cronómetro.
- Tubos de ensayo.

**ALERTAS Y PRECAUCIONES PARA EL DESCARTE DEL PRODUCTO**

- Las informaciones de Descarte, Seguridad y Primeros Socorros están descritas en la Ficha Individual de Seguridad de Productos Químicos (FISPQ) de este producto, disponible en [www.biotecnica.com.br](http://www.biotecnica.com.br) o por el teléfono +55 (35)-3214-4646.
- Deshechar las sobras de las Reacciones de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio Clínico (BPLC) y Programa de Gestión de Residuos de Servicio de Salud (PGRSS).

**GARANTÍA DE CALIDAD / SAC - SERVICIO DE ASISTENCIA AL CLIENTE**

Antes de ser liberados para el consumo, todos los reactivos BioTécnica son testados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos es asegurada hasta la fecha de vencimiento mencionada en el envase, desde que almacenados y transportados en las condiciones especificadas. Los datos relativos al Control de Calidad de este producto (lote impreso en las etiquetas de los frascos de reactivos) o cualquier duda en la utilización de este kit, entrar en contacto con la Asesoría Científica de la Biotécnica Ltda, a través del teléfono +55 35 3214 4646 o por el e mail [sac@biotecnica.com.br](mailto:sac@biotecnica.com.br).

**AUTOMATIZACIÓN**

Este procedimiento es automatizado en la mayoría de los analizadores.

Los protocolos están disponibles en [www.biotecnica.com.br](http://www.biotecnica.com.br).

**APRESENTAÇÕES / PRESENTATIONS / PRESENTACIONES**

	R1	STD		50 - 1 mL 400 - 10 µL
1	1 x 50 mL STD 1 x 4 mL	$\Sigma$		100 - 1 mL
2	2 x 50 mL STD 1 x 4 mL			400 - 10 µL

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS/REFERENCES BIBLIOGRÁFICAS**

- YEE, H.Y. A simplified method for automated phosphorus analysis in serum and urine. *Clin. Chem.* v.14, p.898-903, 1968.
- DALY, A. J.; ERTINGSHAUSEN, G. Direct method for determining inorganic phosphate in serum with the "CentrifChem". *Clin. Chem.* v.18, p.263-265, 1972.
- GAMST, O.; TRY, K. Determination of serum phosphate without deprotonization by ultraviolet spectrophotometry of the phosphomolybdic acid complex. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* v.40, p.483-486, 1980.
- BURTIS, Carl A.; ASHWOOD, Edward R.; BRUNS, David E. *Tietz: Fundamentos de Química Clínica.* 6. ed. Rio de Janeiro: Saunders Elsevier, 2008. 959 p.
- YOUNG, D. S. Effects of drugs on clinical laboratory tests - vol. 2, 5 ed. Washington DC: AAC Press, 2000.
- WESTGARD, J. O. et al. A multi-rule shewhart chart quality control in clinical chemistry. *Clin. Chem.* v.27 p.493-501, 1981.

**TABELA DE SÍMBOLOS INTERNACIONAIS / TABLE OF INTERNATIONAL SYMBOLS /****TABLA DE SÍMBOLOS INTERNACIONALES**

	Reagente e seu número/abreviação Reagent and its number/abbreviation Reactivo y su número/abreviación	STD	Padrão Padrón
<b>R</b> <=>		$\Sigma$	
<b>REF</b>	Código Code Código	$\Sigma$	Conteúdo suficiente para <=> testes Contains sufficient for <=> tests Contenido suficiente para <=> ensayos
<b>LOT</b>	Número de lote Batchcode Denominação de lote		Limite de temperatura Temperature/elimination Temperatura limite
<b>IVD</b>	Para uso diagnóstico <i>in</i>		