

FÓSFORO

REF K020

INSTRUÇÕES DE USO



FINALIDADE

Método para a determinação do Fósforo. Teste colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Colorimétrica

O Fósforo Inorgânico reage com o Molibdato de Amônio (Reagente Nº 2), formando Fosfomolibdato de Amônio, que posteriormente é reduzido a Azul de Molibdênio, cuja intensidade de cor desenvolvida é proporcional à concentração de Fósforo presente na amostra.

REAGENTES

Número 1 - Redutor - Conservar entre 15 e 30°C. Contém: Ácido Ascórbico 55 mmol/L e estabilizante.

Número 2 - Molibdato - Conservar entre 15 e 30°C. Contém: Molibdato de Amônio 20 mmol/L.

Número 3 - Reagente Alcalino - Conservar entre 15 e 30°C. Contém: Hidróxido de Sódio 8 mol/L.

Número 4 - Padrão - Conservar entre 15 e 30°C. Contem: Fósforo 5,0 mg/dL

APRESENTAÇÃO

Reagente	Volume
Nº 1	7 mL
Nº 2	7 mL
Nº 3	14 mL
Nº 4	4 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Espectrofotômetro ou colorímetro, relógio ou cronômetro, pipetas, tubos de ensaio, Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin. Encontram-se no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento e transporte deverá ser de 15 a 30°C. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade.

CUIDADOS ESPECIAIS

1- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.

2- Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.

3- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.

4- Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados.

5- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes.

6- Usar conta-gotas na posição vertical, a fim de que as gotas caiam sobre o reagente.

7- Plasma citratado ou oxalatado fornece resultado 5% menor que o soro.

8- Em locais com temperaturas elevadas, é aconselhável fazer as determinações com os tubos em banho de água.

9- Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.

10- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site www.bioclin.com.br ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

11- Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.

12- É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

AMOSTRAS

Soro obtido livre de hemólise, plasma colhido com heparina e urina de 24 horas. A amostra é estável por 7 dias entre 2 e 8°C. O soro ou plasma devem ser separados até uma hora após a colheita, devido a liberação de Fósforo hemático. A acidificação com HCl conserva a urina por 15 dias em temperatura entre 2 e 8°C.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

TÉCNICA

A Bioclin recomenda, para uso do kit, utilizar como soro controle os kits Biocontrol N e P Bioclin.

Marcar 3 tubos de ensaio: B (Branco), A (Amostra), P (Padrão) e proceder como a seguir:

	Branco	Padrão	Amostra
Água Destilada	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL
Amostra	---	---	100 µL
Reagente Nº 4	---	100 µL	---
Reagente Nº 1	1 gota	1 gota	1 gota
Reagente Nº 2	1 gota	1 gota	1 gota
Homogeneizar bem e aguardar 2 minutos. Adicionar:			
Reagente Nº 3	2 gotas	2 gotas	2 gotas

Agitar e deixar em repouso por 5 minutos. Efetuar as leituras a 650 nm (640 - 670 nm), acertando o zero com o tubo "B" (Branco). A reação de cor é estável por 5 minutos.

Para dosagem na urina: homogeneizá-la, separar 10 mL e acertar o pH entre 1 e 3 com HCl concentrado. No momento de realizar a técnica, diluir a urina 1:10 com água destilada ou deionizada, multiplicar o resultado encontrado por 10.

FOSFOLÍPIDES

Os Fosfolípides são extraídos seletivamente com Álcool Isopropílico e posteriormente dosados conforme a metodologia para dosagens de Fósforo no soro. Em tubo marcado com a letra "A" (Amostra), proceder como a seguir:

Álcool Isopropílico	2,7 mL
Soro	300 µL

Adicionar o soro gota a gota. Agitar fortemente e deixar em repouso por 5 minutos. Centrifugar a 3000 rpm por 5 minutos. Transferir 1,0 mL do sobrenadante límpido para um tubo de

ensaio marcado "A" (Amostra). Colocar em banho fervente até a completa evaporação do Álcool Isopropílico. Aquecer em bico de gás até o clareamento total da mistura (5 minutos). Esfriar entre 15 e 30°C. Este tubo será utilizado na reação de cor. Fazer a dosagem de acordo com a técnica para o soro, omitindo a etapa de colocação da amostra.

CÁLCULOS

Soro

$$\text{Fósforo (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbância da Amostra}}{\text{Absorbância do Padrão}} \times 5$$

Como a reação segue a Lei de Lambert-Beer, o Fator de Calibração pode ser usado.

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{\text{Concentração do Padrão (5 mg/dL)}}{\text{Absorbância do Padrão}}$$

$$\text{mg/dL} = \text{Absorbância da Amostra} \times \text{Fator de Calibração}$$

Urina

$$\text{Fósforo (mg/24 h)} = \frac{\text{(mg/dL)} \times \text{Volume Urinário (mL)}}{100}$$

$$\text{Fosfolípides} = \frac{\text{Absorbância da Amostra}}{\text{Absorbância do Padrão}} \times 125$$

Os valores de Fosfolípides são expressos em mg/dL de Lecitina.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

O desenvolvimento de cor azulada no tubo Branco indica que a água utilizada é de má qualidade, devendo ser analisada com critério.

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

O Laboratório Clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, onde procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente estabelecidos. É importante ressaltar que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica característica, que deve ser monitorada pelos próprios laboratórios. Para tanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens.

RASTREABILIDADE

O padrão do kit é rastreável ao material de referência SRM 186G do NIST (National Institute of Standards and Technology).

VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores de referência em mg/dL, para o presente método foram obtidos através da determinação de Fósforo em populações sadias do sexo masculino e feminino.

Soro	Até 10 dias	4,5 - 9,0 mg/dL
	10 dias a 2 anos	4,5 - 6,7 mg/dL
	2 a 12 anos	4,5 - 5,5 mg/dL
	Maior que 12 anos	2,5 - 4,8 mg/dL
	Adultos	2,5 - 4,8 mg/dL
Urina	340 - 1000 mg/24h	
Fosfolípidos	125 - 300 mg/dL	

Para converter os valores de mg/dL em mmol/L (SI) multiplicar por 0,322.

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

DESEMPENHO DO PRODUTO

CONTROLE DE QUALIDADE

Exatidão

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS E ESPECIFICIDADE METODOLÓGICA

O kit Fósforo foi comparado com outro método para dosagem de Fósforo, comercialmente disponível. Foram realizadas 07 análises e os resultados foram avaliados. A equação linear obtida foi $Y = 0,970X + 0,138$ e o coeficiente de correlação linear 0,988. Com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

Precisão

REPETIBILIDADE

A repetibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

Repetibilidade	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mg/dL)	2,85	3,53	5,36
Desvio Padrão (mg/dL)	0,01	0,01	0,01
Coefficiente de Variação (%)	0,30	0,30	0,24

REPRODUTIBILIDADE

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

Reprodutibilidade	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mg/dL)	2,86	3,55	5,36
Desvio Padrão (mg/dL)	0,01	0,02	0,01
Coefficiente de Variação (%)	0,35	0,43	0,19

Sensibilidade

A sensibilidade foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra isenta da presença de Fósforo. A média encontrada foi 0,1458 mg/dL, com desvio padrão de

0,0005 mg/dL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde a média mais 3 vezes o desvio padrão, e é igual a 0,1474 mg/dL.

Linearidade

A reação de cor é linear até a concentração de 13 mg/dL. Para valores maiores, diluir a amostra com água destilada ou deionizada, efetuar nova determinação e multiplicar o valor obtido pelo fator de diluição.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

A homeostase do Fósforo é mantida principalmente pela função renal, absorção intestinal, metabolismo ósseo e função da glândula paratireoide.

O Fósforo possui função na composição óssea, no equilíbrio ácido-básico, no metabolismo de gorduras e carboidratos, além de estar presente na formação de compostos como os ácidos nucleicos.

Podemos observar valores aumentados de Fósforo nas seguintes condições: insuficiência renal (tuberculose renal, glomerulonefrite crônica, hidronefrose, pielonefrite), hipoparatiroidismo, excesso de vitamina D.

A diminuição do nível de Fósforo provém de diversas causas como: hipovitaminose D (raquitismo, osteomalácia), ingestão de antiácidos, doenças do fígado, síndrome de Fanconi, hiperparatiroidismo, uso de diuréticos tiazídicos.

NÚMERO DE TESTES

140 Testes / 100 μ L de amostra

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - BAGINSKI, E. S.: Amer J. Med. Tec., 35: 475, 1969.
- 2 - GODWIN, J. F., Clin. Chem., 16: 776, 1970.
- 3 - TONKS, D. B., Clin. Chem., 9 – 217, 1963.
- 4 - CHRISTIAN, D. G.: Amer. J. Clin. Pathol. 54: 118, 1979.
- 5 - HENRY, R. J.: Clinical Chemistry – Principles and Technics, 2 Ed., Haper-Row, York, 1974.
- 6 - TODD; SANFORD; DAVIDSOHN, Diagnósticos Clínicos, 1983.

GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes **Bioclin** 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 adequadas.

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: (31) 3439.5454 - Fax: (31) 3439.5455
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

OBELIS S.A.

Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente
Tel.: 0800 0315454
E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro do kit de Fósforo na ANVISA: 10269360117

Revisão: Fevereiro/2013

SIMBOLOGIA UNIVERSAL



NÚMERO DE CATÁLOGO



FABRICADO POR



NÚMERO DO LOTE



CONTROLE



DATA DE FABRICAÇÃO



CONTROLE POSITIVO



DATA DE VALIDADE
(último dia do mês)



CONTROLE NEGATIVO



LIMITE DE TEMPERATURA
(conservar a)



RISCO BIOLÓGICO



O CONTEÚDO É SUFICIENTE
PARA <N> TESTES



INFLÂMÁVEL



CONSULTAR INSTRUÇÕES
DE USO



CORROSIVO



PRODUTO PARA
DIAGNÓSTICO IN VITRO



TÓXICO



REPRESENTANTE
EUROPEU AUTORIZADO



MARCA CE



PROTEGER DA
LUZ E CALOR



NÃO UTILIZAR SE A
EMBALAGEM ESTIVER
DANIFICADA



Bioclin

FÓSFORO

REF K020

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Método para la determinación del Fósforo. Test colorimétrico, solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Colorimétrica

El Fósforo Inorgánico reacciona con el Molibdato de Amonio (Reactivo N° 2), formando Fosfomolibdato de Amonio, que posteriormente es reducido a Azul de Molibdeno, cuya intensidad de color es proporcional a la concentración de Fósforo presente en la muestra.

REACTIVOS

Número 1 - Reductor - Almacenar entre 15 y 30°C. Contiene: Acido Ascórbico 55 mmol/L y estabilizante.

Número 2 - Molibdato - Almacenar entre 15 y 30°C. Contiene: Molibdato de Amonio 20 mmol/L.

Número 3 - Reactivo Alcalino - Almacenar entre 15 y 30°C. Contiene: Hidróxido de Sodio 8 mol/L.

Número 4 - Patrón - Almacenar entre 15 y 30°C. Contiene: Fósforo 5,0 mg/dL.

PRESENTACIÓN

Reactivo	Volumen
N° 1	7 mL
N° 2	7 mL
N° 3	14 mL
N° 4	4 mL

EQUIPAMIENTO E INSUMOS OPERACIONALES

Espectrofotómetro o colorímetro, reloj o cronómetro, pipetas, tubos del ensayo, Biocontrol N y Biocontrol P Bioclin. Materiales encontrados en el mercado especializado de artículos para Laboratorios de Análisis Clínicos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura del almacenamiento y transporte deberá ser de 15 a 30°C. Mantener al abrigo de la luz y evitar humedad.

CUIDADOS ESPECIALES

1- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro* profesional.

2- Seguir con rigor la metodología propuesta para obtención de resultados exactos.

3- El agua utilizada en la limpieza del material debe ser reciente y exenta de agentes contaminantes.

4- Columnas deionizadoras saturadas liberan agua alcalina, iones diversos y agentes oxidantes y reductores, que pueden alterar de forma significativa los resultados.

5- No cambiar las tapas de los frascos de los reactivos.

6- Usar cuentagotas en posición vertical, para que las gotas caigan sobre el reactivo.

7- Plasma citratado o oxalato produce resultados 5% menor que el suero.

8- En lugares con temperaturas elevadas, es aconsejable hacer las determinaciones con los tubos en baño de agua.

9- Se recomienda la aplicación de la ley local, estatal y federal de protección ambiental para la eliminación de reactivos y material biológico se hace de acuerdo con la legislación vigente.

10- Para obtener información relacionada con la seguridad biológica o en caso de accidentes con el producto, consultar la FISPQ (Ficha de Informaciones de la Seguridad de Productos Químicos) disponibles en el site www.bioclin.com.br o solicitando a través del SAC (Servicio de Asesoría al Cliente) de Quibasa.

11- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.

12- Es esencial que los instrumentos y equipos utilizados estén adecuadamente calibrados y sometidos a mantenimientos periódicos.

MUESTRAS

Suero obtenido libre de hemólisis, plasma obtenido con heparina y orina de 24 horas. La muestra es estable por 7 días a temperaturas entre 2 y 8°C. El suero o plasma debe ser separado hasta una hora después de colectado, debido a la liberación de Fósforo hemático. La acidificación con HCl conserva la orina por 15 días a temperatura entre 2 y 8°C.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

TECNICA

La Bioclin recomienda, para uso del kit, utilizar como suero control los kits Biocontrol N y P Bioclin.

Marcar 3 tubos de ensayo: B (Blanco), M (Muestra), P (Patrón) y proceder como a seguir:

	Blanco	Patrón	Muestra
Agua Destilada	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL
Muestra	---	---	100 µL
Reactivo N° 4	---	100 µL	---
Reactivo N° 1	1 gota	1 gota	1 gota
Reactivo N° 2	1 gota	1 gota	1 gota
Homogenizar bien y aguardar 2 minutos. Adicionar:			
Reactivo N° 3	2 gotas	2 gotas	2 gotas

Agitar y dejar en reposo por 5 minutos (cronometrar). Efectuar las lecturas a 650 nm (640 - 670 nm), ajustando el cero con el tubo "B" (Blanco). La reacción de color es estable por 5 minutos.

Para dosificación en la orina: homogenizala, separar 10 mL y ajustar el pH entre 1 y 3 con HCl concentrado. En el momento de realizar la técnica, diluir la orina 1:10 con agua destilada o deionizada, multiplicar el resultado por 10.

FOSFOLÍPIDOS

Los Fosfolípidos son extraídos selectivamente con Alcohol Isopropílico y posteriormente dosificados conforme la metodología para dosificación de Fósforo en suero. En tubo marcado con la letra "M" (Muestra), proceder como se sigue:

Alcohol Isopropílico	2,7 mL
Suero	300 µL

Adicionar el suero gota a gota. Agitar fuertemente y dejar en reposo por 5 minutos. Centrifugar a 3000 rpm por 5 minutos. Transferir 1,0 mL del sobrenadante límpido a un tubo de ensayo marcado "M" (Muestra). Colocar en baño en ebulición hasta la

completa evaporación del Alcohol Isopropílico. Calentar en mechero de Bunsen hasta el clareamiento total de la mezcla (5 minutos). Enfriar a temperaturas entre 15 y 30°C. Este tubo será utilizado en la reacción de color. Hacer la dosificación de acuerdo con la técnica para el suero, omitiendo la etapa de colocación de la muestra.

CALCULOS

Suero

$$\text{Fósforo (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbancia de la Muestra}}{\text{Absorbancia del Patrón}} \times 5$$

Como la reacción sigue la Ley de Lambert-Beer, el Factor de Calibración puede ser usado.

$$\text{Factor de Calibración} = \frac{\text{Concentración de Patrón (5 mg/dL)}}{\text{Absorbancia del Patrón}}$$

$$\text{mg/dL} = \text{Absorbancia de la Muestra} \times \text{Factor de Calibración}$$

Orina

$$\text{Fósforo (mg/24 h)} = \frac{\text{(mg/dL)} \times \text{Volumen Urinario (mL)}}{100}$$

$$\text{Fosfolípidos} = \frac{\text{Absorbancia de la Muestra}}{\text{Absorbancia del Patrón}} \times 125$$

Los valores de Fosfolípidos son expresados en mg/dL de Lecitina.

LIMITACIONES DEL PROCESO

El desarrollo de color azulada en el tubo Blanco indica que el agua utilizada es de mala calidad y debe ser analizada con criterio.

CONTROL INTERNO DE CALIDAD

El Laboratorio Clínico debe poseer un programa interno de control de calidad, donde procedimientos, normas, límites y tolerancia para variaciones sean claramente establecidos. Es importante resaltar que todos los sistemas de medición presentan una variabilidad analítica característica, que debe ser vigilada por los propios laboratorios. Por lo tanto, es recomendable la utilización de controles, que permiten la evaluación, la precisión y la exactitud de las dosificaciones.

TRAZABILIDAD

El patrón del kit es trazable al material de referencia SRM 186G del NIST (National Institute of Standards and Technology).

VALORES DE REFERENCIA

Los valores de referencia en mg/dL, para el presente método fueron obtenidos por la determinación de Fósforo en poblaciones sanas del sexo masculino y femenino.

Suero	Hasta 10 días	4,5 - 9,0 mg/dL
	10 días a 2 años	4,5 - 6,7 mg/dL
	2 a 12 años	4,5 - 5,5 mg/dL
	Mayor que 12 años	2,5 - 4,8 mg/dL
	Adultos	2,5 - 4,8 mg/dL
Orina	340 - 1000 mg/24h	
Fosfolípidos	125 - 300 mg/dL	

Para convertir los valores de mg/dL en mmol/L (SI) multiplicar por 0,322.

Estos valores deben ser usados como orientación, siendo que cada laboratorio deberá crear su rango de valores de referencia, de acuerdo con la población atendida.

Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable, no siendo el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO

CONTROL DE CALIDAD

Exactitud

COMPARACIÓN DE METODOS Y ESPECIFICIDAD METODOLÓGICA

El kit Fósforo fue comparado con otro método para dosificación de Fósforo comercialmente disponible. Fueron realizadas 07 análisis y los resultados fueron evaluados. La ecuación lineal obtenida fue $Y = 0,970X + 0,138$ y el coeficiente de correlación 0,988. Con estos resultados se puede concluir que el kit presenta buena especificidad metodológica.

Precisión

REPETIBILIDAD

La repetibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

Repetibilidad	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Concentración Promedio (mg/dL)	2,85	3,53	5,36
Desvío Patrón (mg/dL)	0,01	0,01	0,01
Coefficiente de Variación (%)	0,30	0,30	0,24

REPRODUCTIBILIDAD

La reproductibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

Reproductividad	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Concentración Promedio (mg/dL)	2,86	3,55	5,36
Desvío Patrón (mg/dL)	0,01	0,02	0,01
Coefficiente de Variación (%)	0,35	0,43	0,19

Sensibilidad

La sensibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones de una muestra exenta de la presencia del Fósforo. El promedio encontrado fue 0,1458 mg/dL, con desvío patrón de

0,0005 mg/dL. La sensibilidad, que indica el límite de detección del método, corresponde el promedio mas 3 veces el desvío patrón, y es 0,1474 mg/dL.

Linealidad

La reacción de color es lineal hasta la concentración de 13 mg/dL. Para valores mayores, diluir la muestra con agua destilada o deionizada, efectuar nueva determinación y multiplicar el valor obtenido por el factor de dilución.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

La homeostasis del Fósforo es mantenida principalmente por la función renal, absorción intestinal, metabolismo óseo y función de la glándula paratiroides.

El Fósforo tiene función en la composición ósea, en el equilibrio ácido-básico, en el metabolismo de grasas y carbohidratos, además de estar presente en la formación de compuestos como los ácidos nucleicos.

Podemos observar valores aumentados de Fósforo en las siguientes condiciones: insuficiencia renal (tuberculosis renal, glomerulonefritis crónica, hidronefrosis, pielonefritis), hipoparatiroidismo, exceso de vitamina D.

La disminución del nivel de Fósforo proviene de diversas causas como: hipovitaminosis D (raquitismo, osteomalacia), ingestión de antiácidos, enfermedades del hígado, síndrome de Fanconi, hiperparatiroidismo, uso de diuréticos tiazídicos.

NÚMERO DE PRUEBAS

140 Pruebas / 100 µL de muestra

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - BAGINSKI, E. S.: Amer J. Med. Tec., 35: 475, 1969.
- 2 - GODWIN, J. F., Clin. Chem., 16: 776, 1970.
- 3 - TONKS, D. B., Clin. Chem., 9 - 217, 1963.
- 4 - CHRISTIAN, D. G.: Amer. J. Clin. Pathol. 54: 118, 1979.
- 5 - HENRY, R. J.: Clinical Chemistry - Principles and Technics, 2 Ed., Haper-Row, York, 1974.
- 6 - TODD; SANFORD; DAVIDSOHN, Diagnósticos Clínicos, 1983.

GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de ser liberados para el consumo, todos los reactivos **Bioclin** son probados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos es asegurada hasta la fecha de validez mencionada en la caja de presentación, si son almacenados y transportados en condiciones adecuadas.

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: +55 (31) 3439.5454 - Fax: +55 (31) 3439.5455
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

OBELIS S.A.

Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

ATENDIMIENTO AL CONSUMIDOR

Servicio de Asesoría al Cliente
Tel.: 0800 0315454
E-mail: sac@bioclin.com.br

Numero de registro del kit de Fósforo en la ANVISA: 10269360117

Revisión: Febrero/2013

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL



NÚMERO DEL CATÁLOGO



ELABORADO POR



NÚMERO DE LOTE



CONTROL



FECHA DE FABRICACIÓN



CONTROL POSITIVO



ESTABLE HASTA
(último día del mes)



CONTROL NEGATIVO



TEMPERATURA LIMITE
(conservar a)



RIESGO BIOLÓGICO



CONTENIDO SUFICIENTE
PARA <N> TESTES



INFLAMABLE



CONSULTAR INSTRUCCIONES
DE USO



CORROSIVO



DISPOSITIVO DE
DIAGNÓSTICO IN VITRO



TÓXICO



EUROPEA REPRESENTANTE
AUTORIZADO



MARCADO CE



PROTEGER DEL
LUZ Y CALOR



NO UTILICE SI EL
EMBALAJE ESTA
DAÑADA



PHOSPHORUS

REF K020

USAGE INSTRUCTIONS

FUNCTION

Method for determination of Phosphorus. Colorimetric test. For *in vitro* diagnostic only.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Colorimetric

The Inorganic Phosphorus reacts with the Ammonium Molybdate (Reagent N° 2) forming Ammonium Phosphomolybdate, that later on is reduced to Blue of Molybdate, which intensity of color developed is proportional to the concentration of Phosphorus present in the sample.

REAGENTS

Number 1 - Reductor - Store between 15 and 30°C. Contains: Ascorbic Acid 55 mmol/L and stabilizer.

Number 2 - Molybdate - Store between 15 and 30°C. Contains: Ammonium Molybdate 20 mmol/L.

Number 3 - Alkaline Reagent - Store between 15 and 30°C. Contains: Sodium Hydroxide 8 mol/L.

Number 4 - Standard - Store between 15 and 30°C. Contains: Phosphorus 5,0 mg/dL.

PRESENTATION

Reagent	Volume
N° 1	7 mL
N° 2	7 mL
N° 3	14 mL
N° 4	4 mL

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Spectrophotometer or colorimeter, watch or stopwatch, pipettes, test tubes, Biocontrol N and Biocontrol P Bioclin. They can be found at markets specialized on Laboratories of Clinical Analysis.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The storage and transport temperatures shall be between 15 and 30°C. Protect from light and avoid moisture.

SPECIAL CARE

1- For professional *in vitro* diagnostic use only.

2- Strictly follow the methodology proposed to obtain exact results.

3- Water used in material cleaning must be recent and free of contaminants.

4- Saturated deionizer columns release alkaline water, many ions, oxidizing agents and reducers that may alter the results significantly.

5- Do not interchange bottle caps from reagents.

6- Use dropper in a vertical position, in order to drop over the reagent.

7- Citrate or oxalate plasma supplies a result 5% lower than the serum.

8- In places at high temperatures, it is advisable to make the determinations with the tubes in water bath.

9- We recommend applying the local, state and federal rules for environmental protection, so that disposal of reagents and biological material can be made in accordance with current legislation.

10- To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the MSDS (Material Safety Data Sheet) available on the website www.bioclin.com.br or upon request by the SAC (Advisory Service Customer) of Quibasa.

11- Do not use the product in case of damaged packaging.

12- It is essential that the instruments and equipments used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

SAMPLES

The serum free of hemolysis, plasma collected with heparin and 24 hours urine. The sample is stable for 07 days between 2 and 8°C. The serum or plasma must be separated in no more than an hour after collection, due to the loss of hematic phosphorus. The acidification with HCl conserves the urine per 15 days in temperatures between 2 and 8°C.

PROCESS DESCRIPTION

TECHNIQUE

Bioclin recommends, as control serum, Biocontrol N and P Bioclin kits.

Mark 3 tubes: B (Blank), A (sample), P (Standard) and proceed as following:

	Blank	Standard	Sample
Distilled Water	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL
Sample	---	---	100 µL
Reagent N° 4	---	100 µL	---
Reagent N° 1	1 drop	1 drop	1 drop
Reagent N° 2	1 drop	1 drop	1 drop
Homogenize well and wait 2 minutes. Then, add:			
Reagent N° 3	2 drops	2 drops	2 drops

Homogenize and let it rest for 5 minutes. Make the readings in 650 nm (640 - 670 nm), adjusting the zero with tube "B" (Blank). Color reaction is stable for 5 minutes.

For urine dosage: homogenize, separate 10 mL and adjust the pH between 1 and 3 with concentrated HCl. When performing the technique, dilute the urine 1:10 with distilled or deionized water, multiply the results by 10.

PHOSPHOLIPIDS

The Phospholipids are extract selectively with Isopropyl Alcohol and later dosed according to the methodology for Phosphorus doses in serum. In a tube marked with the letter "A" (Sample), proceed as follow:

Isopropyl Alcohol	2,7 mL
Serum	300 µL

Add the serum drop by drop. Roughly shake and let it rest for 5 minutes. Centrifuge at 3000 rpm during 5 minutes. Transfer 1,0 mL of translucent supernatant for a test tube marked "A" (Sample). Place it in boiling water-bath until the complete evaporation of Isopropyl Alcohol. Heat the gas tip until the mixture

is totally clear (5 minutes). Cool it between 15 and 30°C. This tube will be used for the color reaction. Carry out dosage according to the technique for serum, hiding the step of coloring of sample.

CALCULATIONS

Serum

$$\text{Phosphorus (mg/dL)} = \frac{\text{Sample Absorbance}}{\text{Standard Absorbance}} \times 5$$

Since the reaction follows the Lambert-Beer Law, the Calibration Factor can be used.

$$\text{Calibration Factor} = \frac{\text{Standard Concentration (5 mg/dL)}}{\text{Standard Absorbance}}$$

$$\text{mg/dL} = \text{Sample Absorbance} \times \text{Calibration Factor}$$

Urine

$$\text{Phosphorus (mg/24h)} = \frac{(\text{mg/dL}) \times \text{Urine Volume (mL)}}{100}$$

$$\text{Phospholipids} = \frac{\text{Sample Absorbance}}{\text{Standard Absorbance}} \times 125$$

The Phospholipids values are expressed in mg/dL of Lecithin.

PROCEDURE LIMITATIONS

The development of a bluish color in Blank tube indicates that the water used is of poor quality, must be analyzed with criteria.

INTERNAL QUALITY CONTROL

The Clinical Laboratory must have an internal quality control, where all procedures, rules, limits and tolerance to variations be clearly established. It is important to mention that all measurement systems present a analytical variety, and it must be monitor by the laboratory. Therefore, it is recommendable the use of controls, allowing the precision and accuracy of the dosages.

TRACEABILITY

The kit's standard is traceable to the reference material NIST (National Institute of Standards and Technology) SRM 186G.

REFERENCE VALUES

The reference values in mg/dL, for this method were obtained through the determination of the phosphorus in healthy populations of male and female.

Serum	Up to 10 days	4,5 - 9,0 mg/dL
	10 days to 2 years	4,5 - 6,7 mg/dL
	2 to 12 years	4,5 - 5,5 mg/dL
	Over 12 years	2,5 - 4,8 mg/dL
	Adults	2,5 - 4,8 mg/dL
Urine	340 - 1000 mg/24h	
Phospholipids	125 - 300 mg/dL	

To convert the values of mg/dL to mmol/L (SI) multiply by 0,322. These values should be used as guidelines, each laboratory should establish its range of reference values, according to the population served.

The results provided by this kit must be interpreted by the medical professional responsible, not being the only criterion for the determination of diagnosis and/or treatment of the patient.

PRODUCT PERFORMANCE

QUALITY CONTROL

Accuracy

COMPARISON OF METHODS

The Phosphorus kit was compared with other commercially available methods for measurement of Phosphorus. 7 analyses were performed and the results were evaluated. The linear equation obtained was $Y = 0,970X + 0,138$ and the correlation coefficient 0,988. With these results, we can conclude that the kit shows good methodological specificity.

Precision

REPEATABILITY

The repeatability was calculated from 20 successive determinations, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

Repeatability	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Average Concentration (mg/dL)	2,85	3,53	5,36
Standard Deviation (mg/dL)	0,01	0,01	0,01
Coefficient of Variation (%)	0,30	0,30	0,24

REPRODUCIBILITY

The reproducibility was calculated from 20 successive determinations for 3 consecutive days, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

Reproducibility	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Average Concentration (mg/dL)	2,86	3,55	5,36
Standard Deviation (mg/dL)	0,01	0,02	0,01
Coefficient of Variation (%)	0,35	0,43	0,19

Sensitivity

The sensitivity was calculated from 20 determinations of a sample free of Phosphorus. An average value of 0,1458 mg/dL, with standard deviation of 0,0005 mg/dL. The sensitivity that indicates the method detection limit, corresponds the average plus three times the standard deviation, and is equal to 0,1474 mg/dL.

Linearity

The color of the reaction is linear up to the concentration of 13 mg/dL. For higher values, dilute the sample with distilled or deionized water, perform a new determination and multiply the value obtained by the dilution factor.

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

Phosphorus homeostasis is maintained primarily by renal function, intestinal absorption, bone metabolism and function parathyroid gland.

Phosphorus has a role in bone composition, the acid-base balance, metabolism of fats and carbohydrates, besides being present the formation of compounds such as nucleic acids. We can observe

the increased values of Phosphorus in the following conditions: renal failure (renal tuberculosis, chronic glomerulonephritis, hydronephrosis, pyelonephritis) hypoparathyroidism, excessive vitamin D.

The decreased level of Phosphorus comes from many causes as vitamin D deficiency (rickets, osteomalacia) intake of antacids, liver disease, syndrome Fanconi, hyperparathyroidism, use of thiazide diuretics.

NUMBER OF TESTS

140 Tests / 100 μ L of sample

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

- 1 - BAGINSKI, E. S.: Amer J. Med. Tec., 35: 475, 1969.
- 2 - GODWIN, J. F., Clin. Chem., 16: 776, 1970.
- 3 - TONKS, D. B., Clin. Chem., 9 – 217, 1963.
- 4 - CHRISTIAN, D. G.: Amer. J. Clin. Pathol. 54: 118, 1979.
- 5 - HENRY, R. J.: Clinical Chemistry – Principles and Technics, 2 Ed., Haper-Row, York, 1974.
- 6 - TODD; SANFORD; DAVIDSOHN, Diagnósticos Clínicos, 1983.

QUALITY ASSURANCE

Before being released for consumption, all **Bioclin** reagents are tested by the Department of Quality Control. The quality of reagents is assured until expiration date stated on the presentation packaging, when stored and transported under appropriate conditions.



QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Phone: +55 (31) 3439.5454 - Fax: +55 (31) 3439.5455
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Made in Brazil



OBELIS S.A.

Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

CUSTOMER SERVICE

Customer Advisory Service
Phone: 0800 0315454
E-mail: sac@bioclin.com.br

ANVISA registration for Phosphorus kit: 10269360117

Review: February/2013

UNIVERSAL SYMBOLOGY



CATALOG NUMBER



MANUFACTURED BY



BATCH CODE



CONTROL



DATE OF MANUFACTURE



POSITIVE CONTROL



USED BY
(last day of month)



NEGATIVE CONTROL



TEMPERATURE LIMITATION
(store at)



BIOLOGICAL RISK



CONTAINS SUFFICIENT
FOR <N> TESTS



INFLAMMABLE



CONSULT INSTRUCTIONS
FOR USE



CORROSIVE



IN VITRO DIAGNOSTIC DEVICE



POISON



EUROPEAN AUTHORIZED
REPRESENTATIVE



CE MARK



KEEP AWAY
FROM SUNLIGHT



DO NOT USE IF
PACKAGE IS
DAMAGED