

BioLyzer[®] Order information:

| Catalog No. | BioLyzer | Contents | | |
|-------------|------------|----------|-----|-------|
| B8504 | 200 / 600 | R1 | 5 x | 20 ml |
| | | R2 | 5 x | 12 ml |
| B8533 | 300 / 600* | R1 | 5 x | 20 ml |
| | | R2 | 5 x | 10 ml |

*only for instruments with a reagent tray for 20 / 70ml bottles

Intended use:

In vitro test for the quantitative determination of phosphorus in human serum and plasma.

Summary:

88% of the phosphorus contained in the body is localized in bone in the form of calcium phosphate as the apatite $\text{Ca}^{2+}[\text{Ca}_3(\text{PO})_2]_3$. The remainder is involved in intermediary carbohydrate metabolism and in physiologically important substances such as phospholipids, nucleic acids and ATP. Phosphorus occurs in blood in the form of inorganic phosphate and in organically bound phosphoric acid. The small amount of extracellular organic phosphorus is found almost exclusively in the form of phospholipids.

The ratio of phosphate to calcium in the blood is approximately 6:10. An increase in the level of phosphorus causes a decrease in the calcium level. The mechanism is influenced by interactions between parathormone and vitamin D. Hypoparathyroidism, vitamin D intoxication and renal failure with decreased glomerular phosphate filtration give rise to hyperphosphatemia. Hypophosphatemia occurs in rickets, hyperparathyroidism and Fanconi's syndrome.

The preferred method for the determination of inorganic phosphorus is based on the formation of ammonium phosphomolybdate with subsequent reduction to molybdenum blue. Reagent stability problems often occur with this method. The method presented here is based on the reaction of phosphate with ammonium molybdate to form ammonium phosphomolybdate without reduction. The addition of an accelerator gives rise to a more rapid rate of reaction and the application of sample blanking yields more precise results.

Test principle:

Inorganic phosphate forms an ammonium phosphomolybdate complex having the formula $(\text{NH}_4)_3[\text{PO}_4(\text{MoO}_3)_{12}]$ with ammonium molybdate in the presence of sulfuric acid. The complex is determined photometrically in the ultraviolet region (340 nm).

Reagent Concentration:

| | |
|--------------------------------|------------|
| R1: | |
| H ₂ SO ₄ | 280 mmol/l |
| NaCl | 154 mmol/l |
| Detergent | 2% |

| | |
|--------------------------------|------------|
| R2: | |
| H ₂ SO ₄ | 280 mmol/l |
| Ammoniummolybdate | 3 mmol/l |
| NaCl | 154 mmol/l |

Preparation and stability:

Unopened kit components: Up to the expiration date at +2°C to +8°C.

R1: Ready for use.

R2: Ready for use.

Onboard stability: R1 90 days
R2 90 days

Specimen:

Collect serum using standard sampling tubes

Heparinized or EDTA plasma, urine

| | | |
|------------|--------|-------------------|
| Stability: | 1 day | at +15°C to +25°C |
| | 4 days | at + 2°C to + 8°C |
| | 1 year | at -20°C |

Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

Notes:

For in vitro diagnostic use.

The material safety data sheet contains further safety-related information. It is available for download from our homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com>.

Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

Limitations - interference:

Criterion: Recovery within ± 10% of initial value.

Icterus: No significant interference up to an index I and 80 approximate bilirubin concentration: 80 mg/dl).

Hemolysis: Significant positive interference at an index H 1200 (approximate hemoglobin concentration: 1200 mg/dl). Note: This interference results from inorganic phosphates produced by the action of phosphatases on organic phosphates, both of which are released from the red cells upon hemolysis.

Lipemia (Intralipid): No significant interference up to an index L of 800 (approximate triglycerides concentration: 1600 mg/dl). There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.

The effect of drugs or their metabolic products on the test is not known in all cases. In case of doubt it is recommended to repeat the test after the medication has been discontinued. However, the medication may only be discontinued according to instructions of the attending physician.

Testing procedure:

Materials provided

• Working solutions as described above

Additional materials required

- Calibrators and controls as indicated below
- 0.9% NaCl

Measuring/reportable range:

Serum

0.10 – 13 mg/dl (0.03 – 4.2 mmol/l)

Determine samples containing higher phosphate concentrations via the rerun function using 0.9% NaCl.

Expected values:

2.7 - 4.5 mg/dl (0.87 -1.45 mmol/l)

Expected values for children are given in „Pediatric reference ranges“ 3rd edition, S.J. Soldin, C. Brugnara, I.M. Hicks, AACCC Press.

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference range. For diagnostic purposes, the phosphorus results should always be assessed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

Analytical sensitivity (lower detection limit):

0.9 mg/dl (0.3 mmol/l)

The lower detection limit represents the lowest measurable phosphorus concentration that can be distinguished from zero.

Imprecision:

Reproducibility was determined using controls in an internal protocol. The following results were obtained:

| <u>Within run</u> | | | |
|-------------------|---------------|-------------|------|
| Sample | Mean (mmol/l) | SD (mmol/l) | CV % |
| Controlserum 1 | 1.29 | 0.011 | 0.9 |
| Controlserum 2 | 2.09 | 0.013 | 0.6 |
| Controlserum 3 | 1.78 | 0.016 | 0.9 |

| <u>Run to run</u> | | | |
|-------------------|---------------|-------------|------|
| Sample | Mean (mmol/l) | SD (mmol/l) | CV % |
| Controlserum 1 | 1.28 | 0.023 | 1.8 |
| Controlserum 2 | 2.06 | 0.039 | 1.9 |
| Controlserum 3 | 2.77 | 0.058 | 2.1 |

Method comparison:

A comparison of the Analyticon Fluitest PHOS (y) with a commercial obtainable assay (x) gave the following result:

$$y = 0.993x + 0.326; \quad r = 0.9899$$

Quality Control:

Human Control Serum:

| | | |
|------------------------------|-----------|-------|
| Contronorm [®] Plus | 5 x 5 ml | #1205 |
| | 20 x 5 ml | #1220 |
| ControPath [®] Plus | 5 x 5 ml | #1305 |
| | 20 x 5 ml | #1320 |

Human Urine Control:

| | | |
|-------------------|----------|-------|
| Urine Control Set | 8 x 5 ml | #1507 |
|-------------------|----------|-------|

The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

Calibration:

Calibration Type: Linear

S1: 0.9% NaCl

S2: Bio-Cal[®]E 10 x 3 ml #1430

Disposal:

Please note the legal regulations.

Literature:

- Burtis C.A., Ashwood E.R., (ed). Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders, 1994:1909.
- Fiske C.H., Subbarow Y. The colorimetric determination of phosphorus. J Biol Chem 1925;66:375-400.
- Garb S. Clinical Guide to Undesirable Drug Interactions and Inter-ferences. New York, NY: Springer Publishing Co, 1971.
- Glick M.R., Ryder K.W., Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1 986;32:470-474.
- Henry R. ed. Clinical Chemistry: Principles and Technics, 2nded. New York, NY: Harper & Row, 1974:723.
- Külpmann W.R., Stummvoll H.K., Lehmann R. Elektrolyte, Klinik und Labor. Heidelberg: Verlag Klinisches Labor, 1993.
- Tausky H.H., Schoor E.A. J Biol Chem 1953;202:675.
- Tietz N.W., ed. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3^o ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders Company, 1995:486-487.
- Tietz N.W., ed. Fundamentals of Clinical Chemistry. Philadelphia, Pa: WB Saunders Company; 1976:901.

Bioalyzer® Bestellinformation:

| Katalog-Nr. | Bioalyzer | Inhalt |
|-------------|------------|--------------|
| B8504 | 200 / 600 | R1 5 x 20 ml |
| | | R2 5 x 12 ml |
| B8533 | 300 / 600* | R1 5 x 20 ml |
| | | R2 5 x 10 ml |

*nur für Instrumente mit Reagenzteller für 20 / 70ml Flaschen

Anwendungszweck:

In vitro Test zur quantitativen Bestimmung von Phosphor in Humanserum und -plasma.

Zusammenfassung:

88% des körpereigenen Phosphors befindet sich in den Knochen als Calciumphosphat in Form von Apatit $\text{Ca}^{2+}[\text{Ca}_3(\text{PO})_2]_3$. Der Rest ist im intermediären Stoffwechsel der Kohlenhydrate beteiligt und in physiologisch wichtigen Substanzen wie Phospholipide, Nucleinsäuren und ATP enthalten. Im Blut liegt der Phosphor als anorganisches Phosphat und organisch gebundene Phosphorsäure vor, der geringe Anteil des extrazellulären organischen Phosphors besteht fast ausschließlich aus Phospholipiden.

Der Phosphatgehalt des Blutes steht ungefähr im Verhältnis 6 zu 10 zum Calciumgehalt des Blutes. Ein Anstieg des Phosphorspiegels verursacht einen Abfall des Calciumspiegels. Dieser Mechanismus wird beeinflusst durch eine Wechselwirkung zwischen Parathormon und Vitamin D. Hypoparathyreoidismus, Vitamin-D-Intoxikationen und Niereninsuffizienz mit verminderter glomerulärer Phosphatfiltration führen zur Hyperphosphatämie. Eine Hypophosphatämie findet man bei Rachitis, Hyperparathyreoidismus und dem Fanconi-Syndrom.

Die Bildung von Ammoniumphosphormolybdat mit nachfolgender Reduktion zu Molybdänblau ist die bevorzugte Methode für die Bestimmung von anorganischem Phosphor. Gewöhnlich treten dabei Probleme mit der Reagenzstabilität auf. Diese Methode beruht auf der Reaktion von Phosphat mit Ammoniummolybdat unter Bildung von Ammoniumphosphormolybdat ohne Reduktion. Der Zusatz eines Akzelerators ermöglicht eine schnellere Reaktion.

Testprinzip:

Anorganisches Phosphat bildet mit Ammoniummolybdat in schwefelsaurer Lösung einen Ammoniumphosphormolybdat-Komplex nach der Formel $(\text{NH}_4)_3[\text{PO}_4(\text{MoO}_3)_2]$. Dieser Komplex wird im ultravioletten Bereich (340 nm) photometrisch gemessen.

Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

| | |
|--------------------------------|------------|
| R1: | |
| H ₂ SO ₄ | 280 mmol/l |
| NaCl | 154 mmol/l |
| Detergenzien | 2% |
| R2: | |
| H ₂ SO ₄ | 280 mmol/l |
| Ammoniummolybdat | 3 mmol/l |
| NaCl | 154 mmol/l |

Herstellung und Haltbarkeit:

Ungeöffnete Packungsbestandteile sind bei +2°C - +8°C bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar.

R1: Inhalt ist gebrauchsfertig
 R2: Inhalt ist gebrauchsfertig
 On board Stabilität: R1 90 Tage
 R2 90 Tage

Untersuchungsgut:

Serum, Plasma, Urin.
 Kontaminierte Proben verwerfen.

Haltbarkeit: 1 Tag bei +15°C bis +25°C
 4 Tage bei +2°C bis +8°C
 1 Jahr bei -20°C

Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.

Hinweis:

In vitro Diagnostikum. Weitere sicherheitsrelevante Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten. Dieses steht auf unserer Homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com> zum Download bereit. Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen:

Als Bewertung gilt: Wiederfindung $\pm 10\%$ vom Ausgangswert.

Icterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index I von 80 entsprechend ca. 80 mg/dl Bilirubin.

Hämolyse: Wesentliche positive Beeinflussung bis einem Index H 1200 (ca. 1200 mg/dl Hämoglobin). Diese Störung wird durch anorganisches Phosphat verursacht, welches durch Einwirkung von Phosphatasen auf organisches Phosphat entsteht. Die Phosphate werden bei der Hämolyse der Erythrozyten freigesetzt.

Lipämie (Intralipid): Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index L von 800 (ca. 1600 mg/dl Triglyceride). Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.

Die Auswirkung von Medikamenten oder deren Metaboliten auf den Test ist nicht in allen Fällen bekannt. Im Zweifelsfall wird deshalb empfohlen, den Test nach Absetzen der Medikation zu wiederholen. Ein Absetzen der Medikation darf allerdings nur nach Anweisung des behandelnden Arztes erfolgen.

Testverfahren:

Gelieferte Materialien

• Gebrauchsfertige Lösungen wie vorher angegeben.

Zusätzlich benötigte Materialien

• Kalibrations- und Kontrollmaterial wie nachfolgend beschrieben.
 • Natriumchlorid-Lösung (0,9%)

Messbereich:

Serum

0,10 – 13 mg/dl (0,03 – 4,2 mmol/l)

Proben mit höheren Konzentrationen werden über die Rerun-Funktion mit Natriumchlorid-Lösung (0,9%) bestimmt.

Referenzbereich:

2,7-4,5 mg/dl bzw. 0,87-1,45 mmol/l

Referenzbereiche für Kinder bitte dem Buch „Pediatric reference ranges“ 3. Auflage, S.J. Soldin, C. Brugnara, I.M. Hicks, AACCC Press entnehmen.

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln. Für diagnostische Zwecke sind die Phosphoregebnisse stets im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten. Kontaminierte Glasware ist die häufigste Fehlerursache. Einweg - Kunststoff Flaschen für den Test benutzen.

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

0,9 mg/dl (0,3 mmol/l)

Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren Phosphorkonzentration, die von Null unterschieden werden kann.

Impräzision:

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

| Probe | In der Serie | | |
|---------|--------------|-------------|------|
| | MW (mmol/l) | SD (mmol/l) | VK % |
| Probe 1 | 1,29 | 0,011 | 0,9 |
| Probe 2 | 2,09 | 0,013 | 0,6 |
| Probe 3 | 1,78 | 0,016 | 0,9 |

Tag / Tag

| Probe | Tag / Tag | | |
|---------|-------------|-------------|------|
| | MW (mmol/l) | SD (mmol/l) | VK % |
| Probe 1 | 1,28 | 0,023 | 1,8 |
| Probe 2 | 2,06 | 0,039 | 1,9 |
| Probe 3 | 2,77 | 0,058 | 2,1 |

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon Fluitest PHOS (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden folgende Ergebnisse erhalten:

$y = 0,993x + 0,326$; $r = 0,9899$

Qualitätskontrolle:

Humanes Kontrollserum:

| | | |
|------------------|-----------|-------|
| Contronorm® Plus | 5 x 5 ml | #1205 |
| | 20 x 5 ml | #1220 |
| ControPath® Plus | 5 x 5 ml | #1305 |
| | 20 x 5 ml | #1320 |

Humane Urin-Kontrolle:

| | | |
|-------------------|----------|-------|
| Urine Control Set | 8 x 5 ml | #1507 |
|-------------------|----------|-------|

Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors und den länderspezifischen Richtlinien anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der festgesetzten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall beschreiben, dass Werte außerhalb des Bereichs liegen.

Kalibration:

Kalibrations Typ: Linear

S1: 0,9% NaCl

S2: Bio-Cal®E 10 x 3 ml #1430

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Literatur:

- Burtis C.A., Ashwood ER (Hrsg.). Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2. Auflage. Philadelphia, PA: WB Saunders, 1994:1909.
- Fiske C.H., Subbarow Y. The colorimetric determination of phosphorus. J Biol Chem 1925;66:375-400.
- Garb S. Clinical Guide to Undesirable Drug Interactions and Interferences. New York, NY: Springer Publishing Co, 1971.
- Glick M.R., Ryder K.W., Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474.
- Henry R (Hrsg.). Clinical Chemistry: Principles and Technics, 2. Auflage. New York, NY: Harper & Row, 1974:723.
- Külpmann W.R., Stummvoll H.K., Lehmann R. Elektrolyte, Klinik und Labor. Heidelberg: Verlag Klinisches Labor, 1993.
- Tausky H.H., Schoor E.A. J Biol Chem 1953;202:675.
- Tietz N.W. (Hrsg.). Clinical Guide to Laboratory Tests, 3. Auflage. Philadelphia, PA: WB Saunders Company, 1995:486-487.
- Tietz N.W. (Hrsg.). Fundamentals of Clinical Chemistry. Philadelphia, PA: W.B. Saunders Company, 1976:901.