

Finalidade

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

Significado Clínico

O fósforo inorgânico é de grande importância em muitas vias metabólicas, em particular quando compostos de alta energia estão envolvidos e, como o cálcio, é um dos principais componentes do osso.

Seu aumento (hiperfosfatemia) é comum em insuficiência renal crônica (frequentemente em pequenos animais) e sua diminuição (hipofosfatemia), na deficiência alimentar simples de fósforo, estresse recente ou excitação.

Fundamento do método

O fósforo inorgânico (Pi) reage em meio ácido com o molibdato para dar um complexo fosfomolibdico que é medido espectrofotometricamente 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

Laborcal Vet da Laborlab.

Instruções de uso

Reagentes Fornecidos: prontos para uso.

Precauções

Os Reagentes são para uso diagnóstico *in vitro* veterinário.

O **Reagente A** é corrosivo. R34: provoca queimaduras. S24/25: evitar o contato com os olhos e a pele. S26: caso haja contato com os olhos, lavar imediatamente com água em abundância e procurar o serviço médico. S28: caso haja contato com a pele, lavar imediatamente com água em abundância. S37/39: utilizar luvas adequadas e proteção apropriadas para os olhos/face.

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartados conforme a regulação local vigente.

Estabilidade e instruções de armazenamento

Os Reagentes Fornecidos são estáveis sob temperatura ambiente (2-25°C) 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 contrário, descartá-lo.

Amostra

Soro, plasma ou urina.

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

Podem ser realizadas a determinação com urina. Neste caso, a urina de 24 horas deve ser coletada em um frasco com 2 mL de ácido clorídrico concentrado. Homogeneizar e medir a diurese. Separar 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 do "Procedimento".

b) **Aditivos:** quando a amostra utilizada for plasma, recomenda-se o uso de EDTA ou citrato como anticoagulantes para sua obtenção.

c) **Estabilidade e instruções de armazenamento:** soro ou plasma devem ser separados dos glóbulos vermelhos em até 2 horas após sua extração, pois os eritrócitos contêm fosfatos orgânicos lábeis que podem levar a resultados falsamente elevados.

O fósforo inorgânico é estável no soro por 8 horas a temperatura ambiente (< 25°C), ou 7 dias sob refrigeração (2-10°C).

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

Interferências

Não são observadas interferências por bilirrubina até 5,8 mg/dL.

A hemólise ou lipemia causam resultados errados.

Recomenda-se processar um branco de amostras para evitar estas interferências.

Material necessário (não fornecido)

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

Condições de reação

- Comprimento de onda: 340 nm (Hg 334 ou 366 nm)
- Temperatura da reação: temperatura ambiente (2-25°C)
- Tempo de reação: 10 minutos
- Volume de amostra: 10 µL
- Volume de reação final: 1,01 mL

Procedimento

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

	B	P	D
Padrão ou Calibrador	-	10 µL	-
Amostra	-	-	10 µL
Reagente A	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Incubar por 10 minutos a temperatura ambiente (2-25°C). 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 por 20 minutos, portanto a absorbância deve ser lida neste intervalo de tempo.

Cálculo dos resultados

Soro ou plasma:

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

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

Exemplo:

(Os dados apresentados a seguir são ilustrativos)

Absorbância da amostra: 0,175

Absorbância do Padrão: 0,150

$$\text{Fator} = \frac{4 \text{ mg/dl}}{0,150} = 26,67$$

Fósforo inorgânico (mg/dL) = 0,175 x 26,67 = 4,67 mg/dL

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

Exemplo:

(Os dados apresentados a seguir são ilustrativos)

Em amostras diluídas 1:10

Absorbância da amostra: 0,135

Absorbância do Padrão: 0,150

Diurese: 1,75 litros/24hs

$$\text{Fósforo inorgânico (g/24hs)} = \frac{0,135}{0,150} = x0,040 \times 10 \times 1,75 = 0,63 \text{ g/24hs}$$

Método de Controle de Qualidade

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (Laborcontrol Vet 1 e 2) com atividades conhecidas de fósforo, com cada determinação. Se a amostra for urina, utilizar um controle baseado em urina.

Conversão de unidades ao sistema SI

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

Valores de Referência

Espécie (mg/dL)

Canina	2,6 – 6,2
Felina	4,5 – 8,1
Bovina	5,6 – 6,5
Equina	3,1 – 5,6

Os valores de referência devem ser usados apenas como orientação. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça, na população de animais atendida, seus próprios valores de referência.

Limitações do procedimento

Vide "Interferências".

- Todo o material de vidro utilizado (incluindo o da coleta da amostra) deve estar livre de fosfatos. Recomenda-se para a limpeza usar detergentes não iônicos.

- Em caso de amostras ictericas, lipêmicas ou hemolisadas, para obter um melhor desempenho nos resultados, deve ser processado um Branco de amostra para cada determinação utilizando solução fisiológica no lugar do reagente. Para efeito de cálculo, a absorbância deste Branco de Amostra deve ser subtraída da obtida do Desconhecido.

Desempenho

a) **Reprodutibilidade:** processando 20 determinações simultaneamente de uma amostra canina e outra equina com valores dentro do intervalo de referência, obteve-se o seguinte:

Amostra Canina:

Concentração	D.P.	C.V.
6,47	0,34	5,25
2,94	0,15	5,10

Amostra Equina:

Concentração	D.P.	C.V.
4,39	0,22	5,01
7,01	0,27	3,85

b) **Linearidade:** a reação é linear até 16 mg/dL. Para valores superiores, diluir a amostra a 1:2 com solução fisiológica e repetir a determinação multiplicando o resultado obtido por 2.

c) **Limite de detecção:** a menor mudança de concentração detectável é 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 ser utilizado o **Laborcal Vet** da Laborlab.

Apresentação

1 x 50 mL **Reagente A**

1 x 4 mL **Padrão**

(Cód. 1774254)

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.
- González, F. H. D.; SILVA, S. C. Introdução a bioquímica clínica veterinária. Porto Alegre: UFRGS, 2003.

- Kerr, Morag G. Exames Laboratoriais em Medicina Veterinária 2ª ed., Roca: São Paulo, 2003.

Termo de garantia

Este Kit como um todo tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Departamento Técnico da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda. que não houve falhas técnicas na execução e manuseio deste kit, assim como em sua conservação.

SÍMBOLOS

	Este produto preenche os requisitos da Diretiva Européia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"
	Representante autorizado na Comunidade Européia
	Uso médico-diagnóstico "in vitro"
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data de validade
	Limite de temperatura (conservar a)
	Não congelar
	Risco biológico
	Volume após da 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

 Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda.
Estrada do Capão Bonito, 489
Guarulhos/SP – Brasil – CEP: 07263-010
CNPJ: 72.807.043/0001-94
Atendimento ao cliente:
+55(11) 2480-0529/+55(11) 2499-1277
sac@laborlab.com.br
www.laborlab.com.br
Revisão 00
Julho, 2020