

Phosphorus

Finalidade

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

Significado clínico

O fósforo encontra-se no organismo fazendo parte de compostos orgânicos (proteínas, lipídios, carboidratos, ácidos nucleicos, etc) ou como fosfatos inorgânicos, cumprindo diversas funções (transporte de energia, estrutura dos tecidos, manutenção do pH dos líquidos corporais). Os tecidos ósseo e muscular o contêm como constituinte essencial e é notável sua participação na composição do tecido nervoso.

Sua concentração na circulação está regulada entre outros fatores, pelos níveis de vitamina D e pelas glândulas endócrinas, observando-se variações fisiológicas de acordo com a idade, atividade física, hábitos alimentares, gravidez, etc.

Existem situações patológicas nas quais este equilíbrio se altera, produzindo anormalidades na concentração do fósforo circulante.

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

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

Fundamentos do método

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

Reagentes fornecidos

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 da Laborlab.

Instruções de uso

Reagentes Fornecidos: prontos para uso.

Precauções

Os Reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

O **Reagente A** é corrosivo. R34: provoca queimaduras. S24/25: evitar o contato com os olhos e a pele. S26: caso de contato com os olhos, lavar imediatamente com abundante água e procurar o serviço médico. S28: caso de contato com a pele, lavar imediatamente com abundante água. 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 descartadas conforme à regulação local vigente.

Estabilidade e instruções de armazenamento

Os Reagentes Fornecidos são estáveis a 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 contrario descartá-lo.

Amostra

Soro, plasma ou urina

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

Pode-se realizar a determinação com urina. Neste caso, deve-se coletar a urina de 24 horas num frasco com 2 mL de ácido clorídrico concentrado. Homogeneizar e medir a diurese. Tomar uma parte, centrifugar ou filtrar e diluir a 1:10 em água destilada (1 mL de urina + 9 mL de água destilada). Processar da mesma forma que na descrição 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 dentro de 2 horas após sua extração, pois os eritrócitos contêm fosfatos orgânicos lábeis que podem conduzir 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).

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

Interferências

Não são observadas interferências por bilirrubina até 58 mg/L.

A hemólise ou lipemia são causas de resultados errados.

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

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

Material necessário (não fornecido)

- Espectrofotômetro

- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.

- Cubetas espectrofotométricas

- Relógio ou cronômetro

Condições de reação

- Comprimento de onda: 340 nm (Hg 334 ou 366 nm)

- Temperatura da reação: temperatura ambiente (2-25°C)

- Tempo de reação: 10 minutos

- Volume de amostra: 10 uL

- Volume de reação final: 1,01 mL

Procedimento

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

	B	P	D
Padrão	-	10 uL	-
Amostra	-	-	10 uL
Reagente A	1 mL	1 mL	1 mL

Incubar 10 minutos a temperatura ambiente (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 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:

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

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/24 hs

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

Método de controle de qualidade

Se a amostra a ensaiar for soro, processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Laborcontrol 1** e **Laborcontrol 2** da Laborlab) com concentrações conhecidas de fósforo, com cada determinação. Se a amostra for urina, utilizar um controle baseado em urina.

Valores de referência

Soro ou plasma

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

Esta faixa foi obtida a partir de amostras provenientes de 120 indivíduos pertencentes a ambos sexos (entre 20 e 45 anos), sem sintomas de doença da glândula paratiróide, renal ou hepática ou de deficiência de vitamina D.

Crianças: 4,0 - 7,0 mg/dL

Urina

0,3 - 1,0 g/24 horas

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

Conversão de unidades ao sistema SI

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

Limitações do procedimento

- Vide "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 uma melhor performance nos resultados, deve-se processar um Branco de amostra com cada determinação utilizando solução fisiológica em lugar de reagente. Para efeito de cálculo, a absorbância deste Branco de Amostra deve ser subtraída da obtida do Desconhecido.

Desempenho

Os ensaios foram realizados no analisador automático Express Plus® (Ciba Corning Diagnostics).

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

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

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

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

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

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

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

Parâmetros para analisadores automáticos

Para a programação consultar o manual de uso do analisador a ser utilizado. Para a calibração deve-se utilizar **Laborcal** da Laborlab.

Apresentação

1 x 100 mL **Reagente A**

1 x 4 mL **Padrão**

(Cód. 1770250)

Referência

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

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



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

Phosphorus

Fin y uso

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

Significación clínica

El fósforo se encuentra en el organismo formando parte de compuestos orgánicos (proteínas, lípidos, carbohidratos, ácidos nucleicos, etc.) o como fosfatos inorgánicos, cumpliendo diversas funciones (transporte de energía, estructura de los tejidos, mantenimiento del pH de los líquidos corporales).

Los tejidos óseo y muscular lo contienen como constituyente esencial y es notable su participación en la composición del tejido nervioso.

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

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

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

Fundamentos del método

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

Reactivos provistos

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

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

Reactivos no provistos

Laborcal de Laborlab.

Instrucciones para su uso

Reactivos Provisos: listos para usar.

Precauciones

Los Reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

El Reactivo A es corrosivo. R34: provoca quemaduras. S24/25: evitar el contacto con los ojos y la piel. S26: en caso de contacto con los ojos, lávese inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico. S28: en caso de contacto con la piel, lávese inmediata y abundantemente con agua. S37/39: usar guantes adecuados y protección para los ojos/la cara.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

Estabilidad e instrucciones de almacenamiento

Los Reactivos Provisos son estables a temperatura ambiente (2-25°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Indicios de inestabilidad o deterioro de los reactivos

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

Muestra

Suero, plasma u orina

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

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

c) Sustancias interferentes conocidas:

- No se observan interferencias por bilirrubina hasta 58 mg/l.

- La hemólisis o lipemia son causa de resultados erróneos. Se recomienda procesar un blanco de muestras para evitar estas interferencias. Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

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

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

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

Material requerido (no provisto)

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

Condiciones de reacción

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

Procedimiento

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

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

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

Estabilidad de la mezcla de reacción final

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

Cálculo de los resultados

Suero o plasma:

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

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

Ejemplo:

(Los datos presentados a continuación son ilustrativos)

Absorbancia de la muestra: 0,175

Absorbancia del Standard: 0,150

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

Fósforo inorgánico (mg/dl) = 0,175 x 26,67 = 4,67 mg/dl

Orina:

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

donde:

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

10 = factor de dilución

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

Ejemplo:

(Los datos presentados a continuación son ilustrativos)

En muestras diluidas 1:10

Absorbancia de la muestra: 0,135

Absorbancia del Standard: 0,150

Diuresis: 1,75 litros/24 hs

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

Método de control de calidad

Si la muestra a ensayar es suero, procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Laborcontrol 1** y **Laborcontrol 2** de Laborlab) con concentraciones conocidas de fósforo, con cada determinación. En el caso de muestras de orina, utilizar un control con base de orina.

Valores de referencia

Suero o plasma

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

Este rango se obtuvo de muestras provenientes de 120 individuos habitantes de la ciudad de Rosario (Argentina), de ambos sexos (entre 20 y 45 años), sin síntomas de enfermedad paratiroidea, renal o hepática o de deficiencia de vitamina D.

Niños: 4,0 - 7,0 mg/dl

Orina

0,3 - 1,0 g/24 horas

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

Conversión de unidades al sistema SI

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

Limitaciones del procedimiento

- Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.
- Todo el material de vidrio usado (incluso en la recolección de muestra) debe estar libre de fosfatos. Se recomienda, para su limpieza, usar detergentes no iónicos.
- Para lograr una mejor performance en los resultados, se recomienda procesar un Blanco de Muestra con cada determinación, reemplazando el Reactivo por solución fisiológica. Este procedimiento es indispensable en el caso de muestras turbias, ictericas, lipémicas o hemolizadas. La absorbancia del Blanco de Muestra debe restarse de la obtenida para el Desconocido para efectuar los cálculos.

Performance

Los ensayos fueron realizados en analizador automático Express Plus^(*).

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

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

Procesando la misma muestra en diferentes días, se obtuvo:

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

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

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

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

Parámetros para analizadores automáticos

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso. Para la calibración debe emplearse **Laborcal** de Laborlab.

Presentación

1 x 100 mL **Reactivo A**

1 x 4 mL **Standard**

(Cód. 1770250)

Bibliografía

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

SIMBOLOS



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



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Cáustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control



Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo