

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:

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

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/24 hs

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

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", AACCPress, 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