

Método

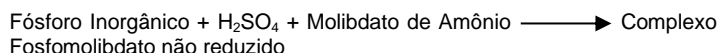
UV de ponto final.

Finalidade

Sistema para determinação quantitativa do Fósforo no soro, plasma e urina. **Somente para uso diagnóstico in vitro.**

Princípio

O fosfato inorgânico reage com o molibdato de amônio em meio ácido formando um complexo de fosfomolibdato de amônio não reduzido. A absorvância do complexo formado, medida em 340 nm, é proporcional à concentração de fósforo na amostra analisada como a reação a seguir:



Significado Clínico

O aumento dos níveis séricos de fósforo pode ser observado em várias situações clínicas. A causa mais comum é a redução da excreção urinária na insuficiência renal crônica. As causas de hiperfosfatemia podem ser por redução da excreção de fosfato (doença renal crônica, hipoparatiroidismo e pseudo-hipoparatiroidismo, acromegalia, calcinose tumoral e uso de bifosfonados), aumento da ingestão de fósforo (causa rara de hiperfosfatemia na ausência de insuficiência renal) e redistribuição do fósforo intracelular (acidose respiratória, em especial a que ocorre cronicamente, lise tumoral). A hiperfosfatemia grave pode induzir hipocalcemia, causando a presença de tetania e calcificações ectópicas (articulações e tecidos moles, assim como pulmão, rim e conjuntiva). A hiperfosfatemia ocasionada pela doença renal crônica pode ocasionar intenso prurido cutâneo por impregnação do íon na pele. A hipofosfatemia pode ocorrer por aumento da excreção renal (hiperparatiroidismo, insuficiência renal aguda e recuperação de necrose tubular aguda, após transplante renal e na síndrome de Fanconi, onde há um defeito complexo de transporte no túbulo proximal, resultando em redução da absorção de glicose, aminoácidos, bicarbonato e fosfato), redução da absorção intestinal (desnutrição, desabsorção e estados de deficiência de vitamina D), redistribuição (alcalose respiratória, síndrome da realimentação) e ainda em situações de mecanismos mistos, como alcoolismo, diabetes melito, uso de medicações, sepse, leucemias e linfomas, além de algumas doenças hepáticas.

Reagentes

Reagente nº 1 - Molibdato - Conservar entre 15 e 30°C. Contém: Molibdato de Amônio <0,5 mmol/L, Ácido sulfúrico <600 mmol/L. Corrosivo.

Reagente nº 2 - Padrão - Conservar entre 15° e 30°C. Manter vedado. Contém: Fosfato de Potássio 5,0 mg/dL.

Estabilidade e Condições de Armazenamento

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo do produto e na embalagem externa quando conservados na temperatura recomendada, bem vedados e se evitado a contaminação durante o uso. A temperatura de armazenamento deverá ser de 15 a 30°C

Cuidados Especiais e Precauções

- O reagente Molibdato (1) é corrosivo, portanto tomar cuidado na manipulação do mesmo para evitar queimaduras. Havendo contato com a pele e olhos, lavar imediatamente com bastante água e procurar atendimento médico.
- Não utilizar os reagentes quando se apresentarem turvos.
- As amostras a serem analisadas devem ser tratadas como material potencialmente infectante.
- Utilizar os EPI's de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico.
- As informações de Descarte, Segurança e Primeiros Socorros estão descritas na Ficha Individual de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) deste produto, disponível em www.bioanalitica.com.br ou pelo telefone 0800 006 8111.
- Reagentes de lotes diferentes não devem ser misturados.
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada.
- Evitar deixar os reagentes fora das condições de armazenamento especificadas, quando os mesmos não estiverem em uso.
- O tempo de reação, pipetagens e temperatura de trabalho são muito importantes para obtenção de resultados corretos.
- Usar pipetas de vidro e ponteiros descartáveis específicas para cada amostra, controle, padrão/calibrador e reagente.
- O nível de água do banho-maria deve ser superior ao dos tubos de ensaio que contém as reações.

Materiais Necessários e Não Fornecidos

- Analisador bioquímico automático, semiautomático ou espectrofotômetro;
- Pipetas de vidro e/ou automáticas;
- Ponteiros, estantes;
- Tubos de ensaio;
- Banho-maria;
- Cronômetro.

Amostra

Soro ou plasma (EDTA/Citrato) e urina. O analito no soro ou plasma é estável por 7 dias armazenada entre 2 e 8°C, quando livres de contaminação. Urina acidificada com HCl é estável por 15 dias no refrigerador.

Para descarte dos reagentes e materiais biológicos devem-se seguir as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

Interferências e Limitações

Algumas substâncias elevam o valor do fósforo: antiácidos alcalinos, Vitamina D, tetraciclina, metilicina e pituitarina e outras diminuem como hidróxido de alumínio, insulina, éter anestésico e injeção.

Concentrações de bilirrubina até 10,10 mg/dL, triglicérides até 617 mg/dL e Ácido ascórbico até 20 mg/dL não produzem interferências significativas. Valores de hemoglobina maior que 0,50 mg/dL produzem interferências significativas nas amostras.

Preparação dos Reagentes

Reagente líquido pronto para uso.

Procedimento Técnico

Equipamentos Automáticos

Para determinação em equipamento automático, verificar no site www.bioanalitica.com.br

Método Reação de Ponto Final

Identificar 3 tubos de ensaio: B (Branco), T (Teste), P (Padrão) e proceder como a seguir:

	Branco	Teste	Padrão
Amostra	---	0,01 mL	---
Padrão (2)	---	---	0,01 mL
Molibdato (1)	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Homogeneizar bem e colocar em banho-maria a 37°C por 10 minutos. Ler a absorvância do Teste e do Padrão em 340 nm (334 - 360 nm), acertando o zero com o Branco. A cor é estável por 20 minutos.

Esta técnica é adequada para fotômetros cujo volume mínimo de solução para leitura é igual ou menor que 1,0 mL. Verificar a necessidade de ajuste do volume, e modificar proporcionalmente para não alterar os cálculos e o desempenho do teste. Volumes de amostra menores que 0,01 mL são críticos em aplicações manuais, pois aumentam a imprecisão da medição.

Para dosagem na urina, quando esta não for acidificada previamente, homogeneizar e separar 10 mL, 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. Fazer a dosagem como na técnica descrita acima e multiplicar o resultado encontrado por 10.

Cálculos

Fósforo (mg/dL) = (Absorvância do Teste ÷ Absorvância do Padrão) × Concentração do Padrão

Fator de Calibração = Concentração do Padrão ÷ Absorvância do Padrão

Exemplo com Padrão

Absorvância do Teste = 0,265

Absorvância do Padrão = 0,245

Concentração do Padrão = 5,0 mg/dL

Fósforo = (0,265 ÷ 0,245) × 5 = 5,41 mg/dL

Exemplo com Fator de Calibração

Fc = 5 ÷ 0,245 = 20,4

Fósforo = 0,265 × 20,4 = 5,41 mg/dL

Urina

Urina (mg/24h) = (mg/dL x Volume em L) x 100

Os resultados serão expressos em g/24h.

Características do Desempenho

Comparação de Métodos

O método foi comparado com outro produto com metodologia semelhante através de 40 amostras de soro humano. Através de modelos estatísticos, os resultados foram analisados e resultaram na equação de regressão linear onde Método Bioanalítica (y) = 0,063 + 0,965 * Método comparativo (x) e coeficiente de correlação igual a 0,999.

Sensibilidade

Uma amostra proteica não contendo Fósforo, foi utilizada para calcular o limite de detecção do ensaio. A média encontrada foi 0,0700 mg/dL equivalente a 20 determinações, com desvio padrão de 0,0057 mg/dL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde à média mais 3 vezes o desvio padrão, que é igual a 0,0870 mg/dL.

Linearidade

A reação é linear até 18 mg/dL. Para amostras com valores acima de 18 mg/dL, diluir a amostra com Cloreto de Sódio 0,85%, repetir a dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

Repetitividade

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

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mg/dL)	1,57	3,27	8,18
Desvio Padrão (mg/dL)	0,01	0,01	0,09
Coeficiente de Variação (%)	0,69	0,39	1,05

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:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mg/dL)	1,04	2,98	7,72
Desvio Padrão (mg/dL)	0,05	0,08	0,26
Coeficiente de Variação (%)	4,53	2,77	3,35

Valores de Referência

Estes valores de referência devem ser usados apenas como orientação. Sugere-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores para população atendida. Os resultados dos testes devem ser analisados por um profissional responsável.

Soro

Crianças e adolescentes mg/dL	
Até 10 dias	4,5 a 9,0
10 dias a 2 anos	4,5 a 6,7
2 a 12 anos	4,5 a 5,5
Acima de 12 anos	2,5 a 4,8

Adultos: 2,5 a 4,8 mg/dL

Urina: 340 a 1000 mg/24 horas

Unidades Convencionais (mg/dL) x 0,323 = Unidade SI (mmol/L).

Controle Interno da Qualidade

O laboratório clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, para assegurar que todos os procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente definidos. Ressaltamos que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica, que deve ser monitorada pelos laboratórios. Portanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens. Sugere-se utilizar soluções estabilizadas da linha de controles e calibradores da Bioanalítica.

Observações

- A limpeza e secagem adequadas do material usado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes. A limpeza da vidraria deve ser feita com detergente neutro. O enxágue deve ser exaustivo sendo os últimos com água destilada ou deionizada.
- A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, a água deve ser do Tipo II, com resistividade > 1 megaohms/cm ou condutividade < 1 microsiemens/cm e concentração de silicatos < 0,1 mg/L. Para o enxágue inicial da vidraria, a água pode ser do Tipo III, com resistividade > 0,1 megahoms ou condutividade < 10 microsiemens. No enxágue final, utilizar água do Tipo II. Coluna deionizadora com sua capacidade saturada libera água alcalina, vários íons e também substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando de maneira imprevisível os resultados. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

Referências Bibliográficas

- Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T. Clin. Chem. 1981; 27: 493-501.
- Balon M, Fernadez C, Muñoz MA. Direct determination of Inorganic Phosphorus serum with a single reagent. Clin Chem 1983; 29:372.
- Henry RJ, Cannon DC, Winkelman JW. Clinical Chemistry, Principles and Technics, 2a Ed. New York, Harper & Row, 1974.
- Daly JA, Ertingshausen G. Direct method for determining inorganic phosphate in serum with "Centrifichem". Clin Chem 1972; 18:263.
- Gamst, O. and Try, K., Scand. J. Clin. Lab. Invest. 40 (1980) 483-486.
- YOUNG, DS. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests. AACC Press, Washington, 1993.
- Tonks DB. Quality Control in Clinical Laboratories, Warner-Chilcott Laboratories, Diagnostic Reagents Division, Scarborough, Canada, 1972.
- Bioanalítica: Dados internos de arquivo do P&D.

Termos e Condições de Garantia

A Bioanalítica Diagnóstica garante o desempenho e a qualidade deste produto, dentro das especificações, até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que utilizados, armazenados e transportados nas condições adequadas.

Apresentação

Ref.	Volume	Reagente 1	Reagente 2
BA229-100	100 mL	1 x 100 mL	1 x 3 mL

Bioanalítica Diagnóstica S/A.

Rua Álvares da Silva, 12 - União
CEP: 31160-360 - Belo Horizonte MG - Brasil
Tel. +55 31 3657-0051
www.bioanalitica.com.br
E-mail: bioanalitica@bioanalitica.com.br
CNPJ: 20.264.948/0001-61 - Indústria Brasileira
SAC: 0800 006 8111
E-mail: sac@bioanalitica.com.br

Revisão: Junho / 2022.