

Método

UV de ponto final.

Finalidade

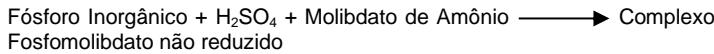
Sistema para determinação quantitativa do Fósforo no soro, plasma e urina.

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 absorbância 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 (hipoparatiroidismo, 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 ponteiras 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;
- Ponteiras, 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, meticilina 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 absorbância 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

$$\text{Fósforo (mg/dL)} = (\text{Absorbância do Teste} \div \text{Absorbância do Padrão}) \times \text{Concentração do Padrão}$$

$$\text{Fator de Calibração} = \text{Concentração do Padrão} \div \text{Absorbância do Padrão}$$

Exemplo com Padrão

$$\text{Absorbância do Teste} = 0,265$$

$$\text{Absorbância do Padrão} = 0,245$$

$$\text{Concentração do Padrão} = 5,0 \text{ mg/dL}$$

$$\text{Fósforo} = (0,265 \div 0,245) \times 5 = 5,41 \text{ mg/dL}$$

Exemplo com Fator de Calibração

$$Fc = 5 \div 0,245 = 20,4$$

$$\text{Fósforo} = 0,265 \times 20,4 = 5,41 \text{ mg/dL}$$

Urina

$$\text{Urina (mg/24h)} = (\text{mg/dL} \times \text{Volume em L}) \times 100$$

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) = $0,063 + 0,965 * \text{Método comparativo}$ (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

- 1 - Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T. Clin. Chem. 1981; 27: 493-501.
- 2 - Balon M, Fernandez C, Muñoz MA. Direct determination of Inorganic Phosphorus serum with a single reagent. Clin Chem 1983; 29:372.
- 3 - Henry RJ, Cannon DC, Wikelman JW. Clinical Chemistry, Principles and Technics, 2a Ed. New York, Harper & Row, 1974.
- 4 - Daly JA, Ertingshausen G. Direct method for determining inorganic phosphate in serum with "Centrifichem". Clin Chem 1972; 18:263.
- 5 - Gamst, O. and Try, K., Scand. J. Clin. Lab. Invest. 40 (1980) 483-486.
- 6 - YOUNG, DS. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests. AACC Press, Washington, 1993.
- 7 - Tonks DB. Quality Control in Clinical Laboratories, Warner-Chilcott Laboratories, Diagnostic Reagents Division, Scarborough, Canada, 1972.
- 8 - 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.