

Fósforo

Kit para determinação do fosfato inorgânico (fósforo) por metodologia colorimétrica.

REF. 342

MS 80022230154



Analisa

MÉTODO

Colorimétrico-Fosfomolibdato.

FINALIDADE

Reagentes para determinação do fósforo inorgânico (fosfato) no soro, plasma, urina e líquido amniótico. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO

Os íons fosfato reagem com o molibdato de amônio na presença de ácido sulfúrico formando um complexo de fosfomolibdato de amônio.

Por ação da hidroxilamina, em meio alcalino, o complexo formado é reduzido a azul de molibdênio, cuja absorvância medida entre em 650 nm, é diretamente proporcional à concentração de fósforo na amostra analisada.

SIGNIFICADO CLÍNICO

No organismo, além de seu papel na mineralização óssea, o fósforo na forma de fosfato, participa de uma variedade de funções estruturais e metabólicas. Por exemplo, os fosfolípidos nas membranas celulares, o fosfato de alta energia na captura e transferência de energia, como segundo mensageiro no sistema endócrino (AMPc) e como eixo principal para RNA e DNA. Portanto, as anormalidades no metabolismo do fósforo podem originar inúmeros problemas.

Valores Elevados - Hiperfosfatemia: A concentração de fósforo no soro está aumentada na insuficiência renal (aguda e crônica), no hipoparatiroidismo, hipervitaminose D, acromegalia, rabdomiólise e nas situações de lise tumoral aguda (por exemplo, quimioterapia do linfoma). A hiperfosfatemia pode ocorrer após a administração de laxativos e enemas de retenção contendo fosfato.

Valores Diminuídos - Hipofosfatemia: A concentração de fósforo está diminuída na fase de absorção dos carboidratos (glicose e demais açúcares são fosforilados ao penetrar nas células).

A hipofosfatemia típica ocorre no: hiperparatiroidismo, raquitismo (deficiência de Vitamina D), esteatorreia e em algumas doenças com reabsorção tubular de fosfato deficiente (Síndrome de Fanconi).

A ingestão prolongada de antiácidos contendo hidróxido de alumínio e hidróxido de magnésio ocasiona uma diminuição do fósforo sérico pela precipitação de fosfatos insolúveis no trato gastrointestinal.

A hiperalimentação parenteral também diminui os níveis de fósforo sanguíneo devido a movimentação do fosfato do plasma para os músculos e tecido adiposo.

QUALIFICAÇÕES DO MÉTODO

- Metodologia colorimétrica de ponto final, simples, rápida e direta para a dosagem do fósforo.
- A solubilização em meio alcalino elimina a interferência das proteínas e acelera a formação da cor.

IDENTIFICAÇÃO DOS REAGENTES

Conservar na temperatura ambiente, entre 15-30 °C.

1. **Padrão de 5,0 mg/dL** - Contém fosfato monobásico de potássio em solução aquosa na concentração de 5,0 mg/dL. Após o uso, armazenar bem vedado entre 2-8 °C para evitar evaporação.
2. **Redutor** - Contém polivinilpirrolidona e hidroxilamina 2,9 mol/L. Este reagente pode apresentar coloração levemente amarelada até alaranjada.
3. **Molibdato** - Contém molibdato de amônio 41 mmol/L e ácido sulfúrico 900 mmol/L.
4. **Tampão** - Contém carbonato de sódio 50 mmol/L e hidróxido de sódio 10 mol/L

ESTABILIDADE

Os reativos são estáveis até o vencimento da data de validade impressa no rótulo do produto e na caixa quando conservados na temperatura recomendada, bem vedados e se evite a contaminação durante o uso.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro (leitura entre 640 e 700 nm);
- Pipetas e tubos;
- Cronômetro.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes e amostra biológica.
- Recomendamos o uso das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos para a execução do teste.
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes.
- Os reagentes Molibdato (3) e Tampão (4) são corrosivos. Contato com os olhos, pele ou mucosas devem ser evitados. Não aspirar ou ingerir.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.

AMOSTRA

SORO, PLASMA (heparina), URINA e LÍQUIDO AMNIÓTICO.

Separar o soro até 1 hora após a coleta para evitar a liberação do fósforo das hemácias. Não usar soro ou plasma hemolisados.

O analito é estável por 2 dias entre 15-25 °C e uma semana entre 2-8 °C.

Plasmas citratados, oxalatos, fluoretados ou com EDTA fornecem resultados falsamente diminuídos.

Nota: Recomendamos que a coleta, preparação, armazenamento e descarte das amostras biológicas sejam realizadas seguindo as recomendações das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Enfatizamos que os erros provenientes da amostra podem ser muito maiores do que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

INFLUÊNCIAS PRÉ-ANALÍTICAS

Para controle terapêutico é aconselhável coletar o sangue sempre no mesmo horário, pois o ritmo circadiano afeta as concentrações de fósforo.

Em pessoas obesas e em mulheres no período menstrual as taxas de fósforo são significativamente mais baixas.

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

INTERFERÊNCIAS

A bilirrubina até 5 mg/dL e lipemia (triglicérides até 170 mg/dL) não produzem interferências significativas.

Amostras com valores de bilirrubina acima de 5 mg/dL produzem resultados falsamente elevados.

Amostras com valores de triglicérides acima de 170 mg/dL produzem resultados falsamente elevados por interferência fotométrica.

Atenção: Para minimizar a ação de interferências fotométricas na dosagem, utilizar o Branco de Amostra.

Branco de Amostra: Misturar 100 µL do soro com 2,5 mL de solução de NaCl 150 mmol/L (0,85%). Medir a absorvância da mistura em 650 nm, acertando o zero de absorvância com água deionizada. Subtrair a absorvância obtida do Branco de Amostra da absorvância do Teste e calcular o resultado final.

PROCEDIMENTO DO TESTE

Notas

1. O material usado no procedimento deve estar completamente isento de fósforo. É aconselhável utilizar material descartável ou lavado com ácido nítrico a 50 % (v/v). Na lavagem do material utilizar detergente não iônico, lavar com água corrente e enxaguar com água deionizada para evitar a obtenção de resultados incorretos pela contaminação com traços de fosfato.
2. O uso de detergente iônico para limpar o material é uma fonte de contaminação com íons fosfato.
3. Ao gotear os reagentes: Redutor (2), Molibdato (3) e Tampão (4), colocar o conta-gotas na posição vertical e deixar as gotas caírem diretamente sobre os líquidos (no fundo do tubo), sem tocar as paredes dos tubos.
4. O tubo Branco deve ficar incolor. O aparecimento de cor azulada visível no tubo Branco é indicação de uso de água de qualidade inadequada.
5. Não trocar as tampas dos reagentes.

A. Condições de Reação

- Leitura: Comprimento de onda 650 nm (640 a 700 nm)
- Medida: Contra o Branco da reação.
- Tipo de reação: Ponto final

B. Técnica de Análise

Identificar 3 tubos de ensaio como Branco, Teste e Padrão e proceder:

Tubos	Branco	Teste	Padrão
Água deionizada	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL
Padrão (1)	----	----	0,1 mL
Amostra	----	0,1 mL	----
Redutor (2)	1 gota	1 gota	1 gota

Misturar.

Molibdato (3)	1 gota	1 gota	1 gota
---------------	--------	--------	--------

Agitar fortemente. Nesta fase ocorre turvação.

Colocar os tubos em banho de água fria 20-25 °C por 3 minutos.

Tampão (4)	2 gotas	2 gotas	2 gotas
------------	---------	---------	---------

Agitar fortemente.

Colocar os tubos em banho de água fria 20-25 °C por 5 minutos.

Fazer as leituras fotométricas do Padrão e Teste em 650 nm ou em filtro vermelho (640 a 700 nm), acertando o Zero de absorvância com o tubo Branco.

A cor é estável por 15 minutos.

Cálculos

Concentração do Padrão (Cp) = 5,0 mg/dL

Concentração do Teste = Ct

Fator de Calibração (FC) = Cp ÷ Ap

FC = 5,0 ÷ Ap

Ap = Absorvância do Padrão

At = Absorvância do Teste

Exemplo

Se Ap = 0,335 e At = 0,266

FC = 5,0 ÷ 0,335 = 14,9

Ct = FC x At = 14,9 x 0,266 = 3,97 = 4,0 mg/dL

Atenção

- O analista sempre deve fazer uma verificação da necessidade de ajuste do volume para o fotômetro empregado no seu laboratório.
- Os volumes de amostra e de reagente podem ser modificados proporcionalmente, sem alterar o desempenho do teste e os cálculos.
- Em caso de redução dos volumes é necessário observar o volume mínimo de leitura fotométrica.
- Volumes da amostra menores do que 10 µL são críticos em aplicações manuais e devem ser usados com cautela porque aumentam a imprecisão da medição.

DOSAGEM NA URINA

A. Preparo da Amostra

Instruir o paciente para coletar corretamente a urina no período de tempo estipulado pelo médico (12 - 24 horas ou outro).
Homogeneizar bem amostra de urina. Separar 10 mL e acertar o pH entre 1 e 3 com HCl concentrado para dissolver os cristais de fosfato.
Diluir a urina acidificada a 1:10 (0,1 mL de urina + 0,9 mL de água deionizada).

B. Dosagem e cálculos

Seguir a mesma metodologia para a dosagem no soro.

Multiplicar o valor obtido por 10.

Ct em mg/dL = valor obtido na dosagem x 10

$$\text{mg/24 horas} = \frac{\text{mg/dL} \times \text{volume urinário (mL)}}{100}$$

Exemplo

Se Volume urinário de 24h = 1300 mL

Se Ap = 0,335 e At = 0,422

FC = Cp + Ap = 5,0 + 0,335 = 14,9

Ct em mg/dL = FC x At x 10 = 14,9 x 0,422 x 10 = 62,8 = 63 mg/dL

Ct em mg/24 h = 819 mg/24 horas

DOSAGEM DOS FOSFOLÍPIDES

A. Extração

1. Em um tubo de centrifuga pipetar 2,7 mL de álcool isopropílico e adicionar 0,3 mL de soro gota a gota.
2. Misturar bem e esperar 5 minutos, na temperatura ambiente.
3. Centrifugar a 3000 rpm por 5 minutos.
4. Pipetar 1,0 mL de sobrenadante límpido, colocar em tubo de ensaio e evaporar em banho-maria fervente até secagem completa.
5. Aquecer em chama até haver clareamento total da mistura (5 minutos).
6. Deixar esfriar, na temperatura ambiente.
7. Dosar o fósforo de acordo com o procedimento técnico, omitindo a etapa de colocação da amostra (0,1 mL).

B. Dosagem

1. Seguir as mesmas instruções para a dosagem no soro, omitindo a etapa de colocação da amostra (0,1 mL).

Cálculos

$$\text{mg/dL} = \frac{\text{Absorbância do Teste}}{\text{Absorbância do Padrão}} \times 125$$

Conversão de Unidades (mg/dL para SI)

mmol/L de fósforo = mg/dL de fósforo x 0,323

VALORES DE REFERÊNCIA

Soro ou plasma: Adultos: 2,5 a 4,8 mg/dL

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

Urina: 300 a 1000 mg/24 horas.

Fosfolípides em lecitina: 125 a 300 mg/dL

Estes valores devem ser usados como uma orientação. É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

AUTOMAÇÃO

Este kit pode ser utilizado na maioria dos analisadores semi-automáticos.

O consumidor poderá solicitar mais informações através do Setor de Apoio ao Cliente (SAC) ou acessando o site www.goldanalisa.com.br

CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório clínico deve manter um Programa de Garantia da Qualidade para assegurar que todos os procedimentos laboratoriais sejam realizados de acordo com as Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Para controle e verificação do desempenho do kit podem ser utilizadas amostras controle com valores estabelecidos pelos fabricantes.

É importante que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores médios e os respectivos limites de variação.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO⁸

Linearidade

A reação é linear até 14,0 mg/dL. Para valores maiores, diluir a amostra com solução de NaCl 150 mmol/L (0,85%) e realizar uma nova determinação. Multiplicar o valor obtido pelo fator de diluição empregado.

Repetitividade

A imprecisão intra-ensaio foi calculada com 20 determinações sucessivas de fósforo, utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes. As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 1,2 e 0,8%.

Reprodutibilidade

A imprecisão inter-ensaio foi calculada com 20 determinações de fósforo em dias diferentes, utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes. As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 1,8 e 2,5%.

Sensibilidade Analítica

O limite de detecção é igual a 0,13 mg/dL, equivalente a média mais dois desvios padrão (DP) obtidos a partir de 20 determinações em uma amostra protéica não contendo fósforo.

Comparação de Métodos

O produto foi comparado com outro disponível no mercado através da análise de 80 amostras de soro humano com valores de fósforo desconhecidos.

Os resultados analisados por modelos estatísticos demonstraram que não há diferença significativa em um intervalo de confiança de 95% com um coeficiente de correlação linear $r = 0,995$ e uma equação de regressão $y = 0,935x + 0,433$.

OBSERVAÇÕES

1. A observação minuciosa da limpeza e secagem da vidraria, da estabilidade dos reagentes, da pipetagem, da temperatura e do tempo de reação é de extrema importância para se obter resultados precisos e exatos.
2. Na limpeza da vidraria pode-se empregar um detergente neutro ou uma solução ácida. A última lavagem deve ser feita com água destilada ou deionizada.
3. A água utilizada nos laboratórios clínicos deve ser purificada utilizando-se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, amins e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Baginski, E.S.: Clin. Chem. 13, 326, 1967.
2. Baginsk ES. Am J Med Tech 1969;35:475.
3. Fiske CH, Subarrow Y.J Biol Chem 1925;66:375.
4. Gomori G. J Lab Clin Med 1942;27:955.
5. Henry RJ, Cannon DC, Wikelman JW. Clinical Chemistry, Principles and Technics, 2a Ed. New York, Harper & Row, 1974.
6. Moura, R.A.A.: Técnicas de Laboratório, 2ª Ed. Atheneu.
7. Taylor, A.E.: J.Biol.Chem. 18, 215, 1914.
8. GOLD ANALISA: Informe Técnico do Produto.

APRESENTAÇÃO

REF.	Reagentes	Volume
342	Padrão	1 x 5 mL
	Redutor	1 x 6 mL
	Molibdato	1 x 6 mL
	Tampão	1 x 12 mL

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

Lei nº 8.078 de 11-9-90 - Código de Defesa do Consumidor

A Gold Analisa garante a substituição, sem ônus para o consumidor, de todos os produtos que comprovadamente apresentarem problemas técnicos, desde que o usuário utilize equipamentos e materiais em boas condições técnicas, siga rigorosamente o procedimento técnico e as recomendações estabelecidas nas Instruções de Uso.

Nº do lote e data de validade: Vide Rótulos do Produto
Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16

AF MS Nº 800222-3 - Reg. MS - Nº 80022230154

Farm. Resp. José Gilmar Pereira Berto - CRF-MG 13421

Av. Nossa Senhora de Fátima, 2363 - Carlos Prates - Fone: (31) 3272-1888

Belo Horizonte MG Brasil CEP: 30710-020

Home page: www.goldanalisa.com.br

E-mail: goldanalisa@goldanalisa.com.br

Setor de Apoio ao Cliente (SAC): 0800 703 1888

Analisa é marca registrada da Gold Analisa Diagnóstica Ltda

SIMBOLOGIA

	Número do catálogo		Limite de temperatura
	Número do lote		Consultar as instruções de uso
	Produto para diagnóstico <i>in vitro</i>		Fabricado por
	Data limite de utilização		Corrosivo