



## QUIMIFOS - Fósforo Molibdato

### Finalidade:

Reação colorimétrica para determinação quantitativa de fósforo em amostras de soro e urina humanos. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

### Princípio:

O fósforo inorgânico presente na amostra reage com o molibdato em meio ácido, formando um complexo colorido que é quantificado por espectrofotometria em 340 nm.

Meio Ácido

Fósforo Inorgânico -----> Molibdato - Fósforo Inorgânico

### Metodologia:

Molibdato - UV

### Significado Clínico:

Soro: A alteração de fosfatemia independe muitas vezes de qualquer distúrbio hidroeletrólítico, prendendo-se geralmente a problemas metabólicos ou endócrinos.

O teor de fósforo inorgânico no soro circulante é influenciado pelo hormônio da paratiróide, absorção intestinal, funcionamento renal e metabolismo ósseo. A absorção intestinal do fosfato está intimamente condicionada à do cálcio, pois a permanência deste no intestino resulta na formação de fosfatos insolúveis que se perdem nas fezes. A absorção do fosfato depende indiretamente da presença de vitamina D. O hormônio da paratiróide exerce sobre a fosfatemia uma influência oposta à exercida sobre a calcemia, isto é, tende a reduzir a fosfatemia por aumentar a excreção renal de fosfato, a despeito de causar mobilização do mesmo a partir dos ossos. O baixo nível de fosfato observado no raquitismo está relacionado à sua má absorção intestinal, bem como o aumento da excreção urinária devida ao aumento da atividade da paratiróide. Existe ao que parece, uma relação recíproca entre cálcio e fósforo. Todo aumento de fósforo no soro causa diminuição do cálcio por um mecanismo ainda não bem compreendido.

Causas de hiperfosfatemia: Insuficiência renal, hipoparatiroidismo, pseudo-hipoparatiroidismo, hipervitaminose D, acromegalia (fase ativa).

Causas da hipofosfatemia: Raquitismo, hiperparatiroidismo (nem sempre), síndromes de má-absorção, algumas formas de disfunção tubular congênita.

Urina: O teste é útil na avaliação do balanço cálcio/fósforo do organismo. Excreção urinária aumentada de fósforo ocorre em hiperparatiroidismo, acidose tubular renal, uso de diurético e na síndrome de Fanconi. Excreção diminuída é encontrada no hipoparatiroidismo e pseudo-hipoparatiroidismo.

### Reagentes:

Reagente único e pronto para uso. Conservar entre 2 e 25 °C. Contém: Molibdato de amônio 1,0 mmol/L, Ácido Sulfúrico 420 mmol/L, Cloreto de Sódio 77 mmol/L.

Padrão (cód 3010): Conservar entre 2 - 8°C. Solução aquosa com concentração de fósforo rastreável ao método de referência proposto pelo CLSI. Verifique a concentração do padrão no rótulo do frasco.

Os reagentes não abertos são estáveis até a data de vencimento impressa no rótulo do produto e on board (em um compartimento refrigerado do analisador) possuem estabilidade de aproximadamente 30 dias.

Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminação de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

### Precauções e Cuidados Requeridos:

Este reagente deve ser usado somente para diagnóstico "in vitro". Não pipetar com a boca. Evitar contato com a pele e roupa. No caso de contato com os olhos, lavar com grande quantidade de água e procurar auxílio médico. O reagente contém ácido forte. Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos. Não usar o reagente se estiver visualmente turvo, apresentar precipitado, ou se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco.

Não usar se a absorvância do branco ultrapassar 0,500 quando medido em 340 nm (cuveta de 1cm) ou se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco.

### Material Necessário não Fornecido:

1. Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorvância de 340 nm.
2. Pipetas para medição de amostras e reagente.
3. Água destilada/deionizada.
4. Consumíveis do analisador quando usado.
5. Soros Controle e Calibradores.
6. Medidor de tempo.

### Amostra:

Soro: O Fósforo no soro é estável por uma semana se conservado entre 2 - 8°C. Para períodos mais prolongados, congelar a amostra

(-20°C).

Urina: Colhe-se urina 24 horas, em frasco contendo HCl a 50%, 20 mL por litro de urina; manter a urina em local fresco durante a colheita. Estável por uma semana se conservado entre 2 - 8°C. Deve ser diluída. É recomendada uma diluição de 1:20.

Todas as amostras são consideradas potencialmente infectantes, portanto sugerimos manuseá-las seguindo as normas estabelecidas de Biossegurança.

### Preparo do Paciente:

Soro: É recomendado jejum de 6 horas.

Urina: Não há preparo específico.

As recomendações poderão ser modificadas segundo orientação médica.

### Interferências:

Deve-se ter cuidado para evitar a contaminação de fósforo. O uso de tubos descartáveis ou cubetas de plástico é recomendado.

Amostras hemolisadas, lipêmicas e ictericas podem causar resultados falsamente elevados. Neste caso, sugerimos branco de amostra. Para 1 mL de solução salina 0,9%, adicionar 20 µL de amostra e ler a absorvância contra o branco de solução salina em 340 nm. Subtrair a absorvância do branco da amostra da absorvância do desconhecido.

Algumas drogas e substâncias afetam a concentração do fósforo, sugerimos consultar Young et al.

### Parâmetros do Sistema:

Temperatura: 37°C

Comprimento de Onda: 340 nm.

Tipo de Reação: Ponto final

Direção: Crescente

Relação Amostra/Reativo: 1:50

Vol. Amostra: 20 µL

Vol. Reagente: 1,0 mL

Tempo de Incubação: 5 minutos

### Calibração:

Utilizar Quimicalib Ebram Cód.7023/12023 ou o padrão que acompanha o kit do cód 3010. A concentração de fósforo no calibrador e no padrão são rastreáveis ao método de referência proposto pelo CLSI.

### Procedimento Automatizado:

Aplicação no sistema automatizado: vide manual para utilização do equipamento e instruções de uso do reagente.

Aplicação no sistema semi-automático: proceder como demonstrado a seguir no procedimento manual até o item 2 (incubação), em seguida utilizar o equipamento para leitura, seguindo protocolo analítico específico baseado no item Parâmetros do Sistema.

### Procedimento Manual:

1. Separar 3 tubos de ensaio e realizar os procedimentos conforme abaixo:

	Branco	Padrão	Amostra/S.C.
Água destilada	20µl	-	-
Padrão	-	20 µl	-
Amostra/S.C.	-	-	20µl
Reagente	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml

2. Homogeneizar os tubos e deixar em Banho-Maria (BM) 37°C por 5 minutos. O nível de água no BM deve ser superior ao nível de reagente nos tubos de ensaio.

3. Zerar o aparelho com o branco do reagente a 340 nm proceder as leituras registrando as absorvâncias do padrão, amostra e soro controle (S.C.).

Nota: a cor final é estável por 30 minutos.

\* Soros fortemente lipêmicos exigem um branco de amostra.

Adicione 0,02 mL (20 µL) de amostra a 1,0mL de solução salina, homogeneizar e ler a absorvância contra água. Subtraia este valor da absorvância do paciente para obter a leitura corrigida.

Obs.: Procedimento sugerido para espectrofotômetros que requerem volume mínimo de 1,0 mL e podem ser ajustados proporcionalmente sem influência no desempenho do teste. Salientamos que volumes de amostra menores do que 10 µL aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

### Cálculos:

( Abs. = Absorvância)

( Conc. = Concentração)

$$\text{Fósforo Amostra} = \frac{\text{Abs. amostra}}{\text{Abs. padrão}} \times \text{Conc. do padrão} \quad (\text{mg/dL})$$

Cálculo para Urina de 24 horas:

Urina= fósforo amostra (g/L) X fator diluição X Volume (L)

### Exemplo:

Abs. da amostra = 0,140

Abs. do padrão = 0,120

Conc. do padrão = 5,1 mg/dL

Volume urinário 24hs = 1,25L

OBS: g/L = mg/dl x 0,01

Fósforo Amostra = (0,140 / 0,120) x 5,1 = 5,95 mg/dl

Fósforo Amostra = 5,95 mg/dL = 0,0595 g/L

Fósforo na Urina = 0,0595 x 20 x 1,25

Fósforo na Urina = 1,48g/24h

### Linearidade:

Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 15 mg/dL.

Amostras com valores superiores a 15 mg/dL devem ser diluídas com solução salina a ponto de ficarem entre 0 - 15 mg/dL e os resultados devem ser multiplicados pelo fator de diluição.

### Controle de Qualidade:

Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e ações corretivas. Deve-se manter também um sistema definido para se monitorar a variação analítica do sistema de medição. Aconselhamos o uso dos soros controle Quimicontrol Normal e Quimicontrol Anormal Ebram Cód. 7024/12024 e 7031/12031.

### Valores Esperados:

Soro: 2,5 - 4,8 mg/dL.

Crianças: 4,0 - 7,0 mg/dL.

Urina de 24h: 0,4 - 1,3 g/24 h

Estes valores são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

### Estudos Comparativos:

Estudos executados entre este procedimento e uma metodologia similar produziram os seguintes resultados:

Número de Amostras:	30
Intervalo dos resultados	0,7 - 11,9 (mg/dL)
Coefficiente de Correlação:	0,998
Inclinação:	1,03
Intercepta:	-0,03 (mg/dL)

### Precisão:

Estudos de precisão foram executados com dois níveis (normal e patológico) sendo que cada amostra fora processada por 10 vezes e os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=10	Nível 1	Nível 2
Média (mg/dL)	4,34	8,10
D.P. (mg/dL)	0,10	0,16
C.V. (%)	2,20	2,30

### Exatidão:

As amostras foram processadas por 10 dias consecutivos, uma vez por dia e em duplicata. Os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=10	Nível 1	Nível 2
Média (mg/dL)	4,34	8,10
D.P. (mg/dL)	0,17	0,22
C.V. (%)	4,00	2,70

### Sensibilidade Metodológica:

0,389 mg/dL

### Especificidade:

Como as amostras foram selecionadas aleatoriamente em pacientes de ambulatório e hospitalizados, pode-se inferir que o método tem uma especificidade metodológica adequada.

### Observações:

1. A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
2. A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade  $\geq 1$  mega ohm ou condutividade  $\leq 1$  microsiemens e concentração de silicatos  $< 0,1$  mg/L (água tipo II). Para o enxágue da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade  $\geq 0,1$  megaohms ou condutividade  $\leq 10$  microsiemens. No enxágue final utilizar água tipo II.

### Apresentação:

Linha Bioquímica Geral: 7 x 15mL + 1 x 1,0mL

Linha Hitachi 917 / Advia: 3 x 65mL

Linha Bulk: 1 x 500mL

Linha SAT: 2 x 45mL

Para mais informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM - tel. (011) 2291-2811,

sac@ebram.com ou www.ebram.com

### Referência Bibliográfica:

1. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders, p. 638, (1970).
2. Osmond, M.F., Bull. Soc. Chim. 47:745 (1887)
3. Taylor, A.E., Miller, CW., J. Biol. Chem. 18:215 (1914)
4. Fiske, CH., Subbarow, Y., J. Biol. Chem. 66:275 (1925)
5. Lowry, OH., Lopez, J.A., J. Biol. Chem. 162:421 (1945)
6. Power, M.H., Standard Methods of Clinical Chemistry New York, Academic Press, (1953).
7. Miller, O., Gonçalves, R.R., Laboratório para o Clínico, 8 ed. Atheneu, (1998).
8. Arquivos da EBRAM.



### APLICAÇÃO PARA COBAS MIRA

<b>GENERAL</b>	
Measurement Mode:	ABSORB
Reaction Mode:	R-S
Calibration Mode:	Calibrator (Slope AVG)
Reagent Blank:	Reagent/Dil
Cleaner:	Before
Wavelength:	340 nm
Decimal Position:	1
Unit:	mg/dl
<b>ANALYSIS</b>	
Dilution Name:	STD
Factor:	Main STD
Time:	Sample Dil Name: H2O
Post Dil Factor: 2.00	Conc. Factor: No
Sample:	Cycle: 1
Volume:	Dil: 20ul
Reagent:	Cycle: 1
Volume:	170ul
Start Reagent 1:	Cycle:
Volume:	Dil:
Start Reagent 2:	Cycle:
Volume:	Dil:
<b>CALCULATION</b>	
Sample Limit:	No
Point:	
Reaction Direction:	Increase
Check:	On
Conversion Factor:	1.00000
Offset:	0.00000
Test Range Low:	0.0
High:	15.0
Norm Range Low:	2.5
High:	4.8
Number of Slats:	1
Calculation Step A:	Endpoint
Readings First:	CR
Last:	12
Reaction Limit:	
Point:	
Calib Interval:	On Request
<b>CALIBRATION</b>	
Reagent Blank:	
Reagent Range:	
Reagent Range Low:	-0.0500
Blank Range Low:	-0.0300
High:	0.4400
Blank Range High:	0.3000
Factor:	
Calibrator Pos:	(*)
STD1:	STD2:
STD3:	STD4:
STD5:	STD6:
STD7:	STD8:
Calc Model:	
Correction STD:	
Replicate:	Duolic
Deviation:	5%
<b>CONTROL</b>	
CS1 - Pos (*) Assay (***) Low (***) High (***)	
CS2 - Pos (*) Assay (***) Low (***) High (***)	
CS3 - Pos (*) Assay (***) Low (***) High (***)	
(*) colocar a posição correspondente do Rack CAUCS	
(**) colocar o valor correspondente do calibrador	
(***) colocar o valor correspondente do soro controle	

### APLICAÇÃO PARA EXPRESS 550

Test Name: Phosphorus	Test: PHOSP			
Test Bar Code:				
Test Type: Endpoint	Curve Type: Blank Linear			
Units: mg/dl	Nº of Decimal Places: 1			
Primary Wavelength: 340	Secondary Wavelength: 405			
Read Time Interval: 20	Sample Blank: No			
Factor:				
Calibration Interval: 999				
Normalization Interval:				
Nº of Calibrations: 2	Nº of Replicates: 2			
Low Blank A Limit: -0.10	High Blank A Limit: 1.600			
Low A Limit: 0.000	High A Limit: 2.000			
Low Normal: 2.5	High Normal: 4.8			
Linearity Limit: 15.0	Curve S.D Limit: 0.800			
Test Name: Phosphorus	Test: PHOSP			
Test Bar Code:				
Sample Volume: 5ul	Sample Diluent:			
Reagent Dilution Ratio: 1	Predilution Ratio: 1			
Reagent Dilution:				
Reagent 1	Reagent Volume	Bar Code	Diluent Volume	Lag Time
Reagent 2	275	YD2A		180 sec
Reagent 3				
Reagent 4				
Controls:				

### APLICAÇÃO PARA SELECTRA

Name:	Fósforo
Abbr Name:	FOS
Mode:	Endpoint
Wavelength:	340 nm
Units:	mg/dl
Factor:	1
Low Conc:	0.0
High Conc:	15.0
Calibrator Name:	(*)
Reagent Number:	2
Concentration:	(**)
Interval:	(*)
Cut off:	NO
Prozone Check:	NO
Ref Male Low:	2.5
Ref Male High:	4.8
Ref Female Low:	2.5
Ref Female High:	4.8
Ref Pad Low:	(*)
Ref Pad High:	(*)
Control 1:	(*)
Control 2:	(*)
Control 3:	(*)
Comstat Factor:	1.000
Comstat Offset:	0.000
<b>DUAL MODE</b>	
Name:	Fósforo
Sample Blank:	NO
R1 Bottle:	25 ml
Normal Volume:	250ul
Reagent Volume:	253ul
<b>SAMPLE</b>	
Normal Volume:	5ul
Reagent Volume:	2ul
R2 Bottle:	NO
Normal Volume:	0
Reagent Volume:	0
Predilution:	NO
Slope Blank:	
Delay Min Time:	
Linearity Limit:	
Control One Two:	
Incubation Time:	4.5 min
Low Absorbance:	-0.100
High Absorbance:	3.000
R ABS L Limit:	-0.100
R ABS H Limit:	1.200
Substr Depletion:	
Reagent Blank:	
R ABS Deviation:	YES #
Cal Low Limit:	(*)
Cal High Limit:	(*)
Factor:	#
<b>MONO MODE</b>	
Name:	Fósforo
Sample Blank:	NO
R1 Bottle:	25 ml
Normal Volume:	250ul
Reagent Volume:	253ul
<b>SAMPLE</b>	
Normal Volume:	5ul
Reagent Volume:	2ul
Delay Min Time:	
Linearity Limit:	
Predilution:	NO
Incubation Time:	
Point One Two:	4.5 min (**)
Low Absorbance:	-0.100
High Absorbance:	3.000
R ABS L Limit:	-0.100
R ABS H Limit:	0.800
Substr Depletion:	
R ABS Deviation:	
Reagent Blank:	YES #
Cal Low Limit:	(*)
Cal High Limit:	(*)
Factor:	#
(*) Dados colocados pelo usuário	
(**) Colocar o valor correspondente do calibrador	
(***) Para Selectra o tempo de incubação será de 11.5 min	
#) Dados calculados pelo analisador	

### APLICAÇÃO PARA BTR 810

Name:	Fósforo
Point Final:	mg/dl
Units:	Monocromática
Mode/Len:	340
Filter:	3
Tempo Estab:	
Factor:	
Tempo de Incubação:	
Tempo de Intervalo:	
Nº de Intervalos:	
Temperatura:	37°C
Volume Amostra:	400
Tempo Resposta:	Crescente
Estabilidade:	**

### APLICAÇÃO PARA QUICK LAB

Mode:	Point Final
Len/Len:	Monocromática
Filter:	340
Temperatura:	37°C
Volume Amos:	400
Units:	mg/dl
Linearity:	15
Inclinação:	Crescente
Cálculo:	padrão
Padrão:	**
Factor:	
Delay Initial:	
Quant Intery:	
Tempo Intery:	
Tempo Estab:	5 sec

### APLICAÇÃO PARA BIO 2000

Mode:	P.F.
WL1:	340
Blank:	Sim
Blk Amos Pad:	Não / Não
Tempo:	37°C
Vol Amos:	0400
Rel:	030
Pad:	
Padrão:	Sim
Padr:	Única
Unit:	**
Dec:	mg/dl
Int Cn:	1
nº Int:	
AMIN:	
%Lim Lin:	
Dir:	
Lim Lin - Min/Max:	0.000 / 0.015
Abs Real - Min/Max:	0.000 / 0.100
Abs Pad - Min/Max:	0.000 / 1.000
Vol/Vn - Min/Max:	2.5 / 4.5

### APLICAÇÃO PARA RA-XT

Name:	PHOSP
Immunosay:	NO
Chemistry Type:	ENDPOINT
BioType:	
Immuno Chemistry:	
% Sample Volume:	12 (8ul)
Wavelength:	340
Biochromatic Chemistry:	No
Biochromatic Factor:	
K1:	
K2:	
Bio Limit 1:	
Bio Limit 2:	
Detection Limit:	
Delay Time:	4.00
Blank Type:	No
Incubation:	
% Reagent Volume:	60 (300ul)
2nd Reagent:	No
2nd Reagent Volume:	
A2 Delay:	
Units:	mg/dl
Unit Factor:	1.0000
Decimal Point:	1
RBL Low:	0.000
RBL High:	0.800
Range Low:	0.0
Range High:	15.0
Calibration Factor:	(*)
Reagent Rate:	
Standard Value:	(**)
Normal Low:	2.5
Normal High:	4.8
Slope:	1.000
Intercept:	0.000
C1*10E-6:	
C2*10E-6:	
D1*10E-6:	
Delta R:	
Linear Factor:	
Final Limit:	
Endpoint Limit:	0.0150
(*) Colocar o valor inicial. O valor de CAL FACT é determinado pelo ensaio de calibração	
(**) Colocar o valor correspondente do calibrador	

### APLICAÇÃO PARA AIRONE

Measure Unit:	mg/dl	Decimals: 1	Reaction Type:	Endpoint
Volume (µl):	Serum: 7	Plasma: 7	Urine: 7	
Abs Range (m Abs):	Reagent 1: 400	Reagent 2: 0		
Linearity Limit:	Min: 0	Max: 2.000		
Contaminating:	No	Reagent Blank: Yes		
Filter:	340	Different: No		
Time (sec):	Mix 1: 3.00	Incubation 1: 360	Lag Phase: 3	
	Mix 2: 0.00	Incubation 2: 0	Measure: 1	
Measurement Type:	Standard	Factor: 0.00		
Normal Range:				
Age (yrs)				
Below 10:	Min.	Max.	Min.	Max.
From 10 to 80:	2.5	4.8	2.5	4.8
Over:				

Ebram Prods. Laboratoriais Ltda.  
 Rua Júlio de Castilhos, nº 500 - Belenzinho  
 São Paulo - SP - Cep: 03059-001  
 Tel.: (11) 2291-2811  
 Indústria Brasileira  
 CNPJ.: 50.657.402/0001-31  
 www.ebram.com  
 sac@ebram.com  
 SAC.: (11) 2291-2811  
 Resp. Téc.: Nadjara Novaes Longen  
 CRF-SP - 37.451  
 Nº do Reg. MS: 10159820164  
 Edição: Fev/2018

Disponemos de programações para outros analisadores, entre em contato com SAC EBRAM.