

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMIFOS - FÓSFORO	Página 1 de 4 POP BIOxxx/xx
--------------------------------------	---	--

USO

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 hidroeletrolítico, prendendo-se geralmente a problemas metabólicos ou endócrinos.

O teor de fosforo inorgânico no soro circulante é influenciado pelo hormônio da paratireoide, absorção intestinal, funcionamento renal e metabolismo ósseo. A absorção intestinal do fosfato está intimamente condicionada a do cálcio, pois a permanência deste no intestino resulta na formação dos fosfatos insolúveis que se perdem nas fezes. A absorção do fosfato depende indiretamente da presença de vitamina D. O hormônio da paratireoide exerce sobre a fosfatemia uma influência oposta a 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 a sua má absorção intestinal, bem como o aumento da excreção urinária devida ao aumento da atividade da paratireoide.

Existe ao que parece, uma relação recíproca entre cálcio e fosforo. Todo aumento de fosforo 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/fosforo do organismo. Excreção urinária aumentada de fosforo ocorre em hiperparatiroidismo, acidose tubular renal, uso de diurético e na síndrome de Fanconi. Excreção diminuída e encontrada no hipoparatiroidismo e pseudo-hipoparatiroidismo.

PRODUTO UTILIZADO

QUIMIFOS - FOSFORO MS: 10159820164

Fabricante: Ebram Produtos Laboratoriais Ltda.

Rua Julio de Castilhos, 500.

Belenzinho – São Paulo – SP – Brasil - CEP: 03059-001

Para maiores informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM:

Tel. (011) 2291-2811 ou sac@ebram.com

REAGENTES

Reagente único e pronto para uso. Conservar entre 2 e 25 °C.

Contem: Molibdato de amônio 1,0 mmol/L, Acido Sulfúrico 420 mmol/L, Cloreto de Sódio 77 mmol/L.

Padrão (Cód 3010): Conservar entre 15 – 25°C. Solução aquosa com concentração de fosforo 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.

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

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMIFOS - FÓSFORO	Página 1 de 4 POP BIOxxx/xx
--------------------------------------	---	--

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

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

AMOSTRA

Soro: O Fosforo no soro é estável por uma semana se conservado entre 2 – 8°C.

Urina de 24 horas: 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:

É recomendado que as amostras sejam coletadas de acordo com as recomendações médicas e/ou norma de referência utilizada pelo laboratório.

MATERIAL NECESSÁRIO NÃO FORNECIDO

1. Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorbância de 340nm.
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.

PROCEDIMENTO

• Procedimento automático:

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

Aplicação no sistema semiautomático: 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	-	20µl	-
Amostra/S.C.	-	-	20µl
Reagente	1,0mL	1,0mL	1,0mL

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 340nm proceder as leituras registrando as absorbâncias do padrão, amostra e soro controle (S.C.).

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMIFOS - FÓSFORO	Página 1 de 4 POPBIOxxx/xx
--------------------------------------	---	---------------------------------------

Nota: a cor final e estável por 30 minutos.

* Soros fortemente lipemicos exigem um branco de amostra.

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

Obs.: Procedimento sugerido para espectrofotômetros que requerem volume mínimo de 1,0mL e podem ser ajustados proporcionalmente sem influencia no desempenho do teste.

Salientamos que volumes de amostras menores do que 10µL aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

CÁLCULOS

(Abs. = Absorbância)

(Conc. = Concentração)

Abs.amostra

Fosforo Amostra = ----- x Conc. do padrão
(mg/dL) Abs. padrao (mg/dL)

Cálculo para Urina de 24 horas:

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

RESULTADOS

Soro: 2.5 – 4.8 mg/dL

Crianças: 3.0 - 7.0 mg/dL

Urina de 24h: 0,4 – 1,3 g/24h

Estes valores são dados unicamente como titulo orientativo. É recomendado que cada laboratorio estabeleça seu próprio intervalo de referencia.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- **Linearidade / Sensibilidade**

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

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

Sensibilidade : 0,0 mg/dL

- **Interferências:**

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

Amostras hemolisadas, lipemicas (triglicérides acima de 83 mg/dL) e ictéricas (bilirrubina acima de 12,8 mg/dL) podem causar resultados falsamente elevados. Neste caso, sugerimos branco de amostra. Para 1mL de solução salina 0,9%, adicionar 20µL de amostra e ler a absorbância contra o branco de solução salina em 340nm. Subtrair a absorbância do branco da amostra da absorbância do desconhecido.

Algumas drogas e substancias afetam a concentração do fosforo, sugerimos consultar Young et al.

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 agua utilizada no laboratorio deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade ≥1 mega ohm ou condutividade ≤1 microsiemens

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMIFOS - FÓSFORO	Página 1 de 4 POPBIOxxx/xx
--------------------------------------	---	---------------------------------------

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 $\geq 0,1$ mega ohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágue final utilizar água tipo II.

REFERÊNCIAS

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.

	Nome	Assinatura	Data
Elaborado por			
Aprovado por			
Revisado por			
Desativado por			
Razão			

VER: Out/20