



QUIMIFOS - Fósforo

Molibdato

REG. MS: 10159820253

EBRAM PRODUTOS LABORATORIAIS LTDA.

Rua Julio de Castilhos, 500 - Belenzinho

São Paulo - SP - Tel.: +55 11 2291 2811

CEP 03059-001 | Indústria Brasileira

CNPJ.: 50.657.402/0001-31

RESPONSÁVEL TÉCNICA

Dra. Nadjara Novaes Longen | CRF-SP - 37.451

Para mais informações, entrar em contato com o **SAC EBRAM**

0800 500 2424 ou ☎ 11 2574 7110

sac@ebram.com | www.ebram.com

Revisão: Agosto/2023

FINALIDADE. Reação colorimétrica para determinação quantitativa de fósforo em amostras de soro, plasma, urina e líquido amniótico. 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.

Fósforo Inorgânico + H₂SO₄ + Molibdato de Amônio não reduzido → Complexo fosfomolibdato

METODOLOGIA. Molibdato UV

SIGNIFICADO CLÍNICO. No soro, a alteração de fosfatemia independe muitas vezes de qualquer distúrbio hidroeletrolítico, 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. Na 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 0,81 mM e ácido sulfúrico 255 mM. Padrão (cód 3010): Conservar entre 2 e 8 °C. Solução aquosa contendo concentração padrão de fósforo rastreável ao Material de Referência Padrão JCCRM 321-6. 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.

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 absorbância 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.

- Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorbância de 340 nm.
- Pipetas para medição de amostras e reagente.
- Água destilada/deionizada.
- Consumíveis do analisador quando usado.
- Soros Controle e Calibradores.
- Cronômetro.

AMOSTRA. Soro obtido livre de hemólise, plasma colhido com Heparina, urina de 24 horas e líquido amniótico.

O soro ou plasma devem ser separados até uma hora após a coleta, devido a liberação de Fósforo hemático.

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

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

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 (triglicérides acima de 83 mg/dL) e ictericas (bilirrubina acima de 12,8 mg/dL) 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 absorbância contra o branco de solução salina em 340 nm. Subtrair a absorbância do branco da amostra da absorbância 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, para kits com padrão. A concentração de fósforo no Quimicalib é rastreável ao material de referência NIST 956d e no padrão ao JCCRM 321-6.

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.

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

Tubos	1. Branco	2. Padrão	3. Amostra/S.C.
Água Destilada	20µ	-	-
Padrão	-	20µL	-
Amostra S/C			20µL
Reagente	1,0mL	1,0mL	1,0mL

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

Nota: a cor final é estável por 30 minutos.

* Soros fortemente lipêmico s exigem um branco de amostra. Adicione 0.02 mL(20 µL) de amostra a 1.0mL de solução salina, homogeneizar e ler a absorbância contra água. Subtraia este valor da absorbância 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. = Absorbância)
(Conc. = Concentração)

Fósforo Amostra (mg/dL) =

$$\frac{\Delta \text{ Abs. Amostra}}{\Delta \text{ Abs. Padrão}} \times \text{concentração padrão}$$

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 0,0 - 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.

Caninos: 2,6 - 6,2 mg/dL

Felino: 4,5 - 8,1 mg/dL

Bovinos: 5,6 - 6,5 mg/dL

Equinos: 3,1 - 5,6 mg/dL

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	50
Intervalo dos resultados	0,7 - 11,9 (mg/dL)
Coefficiente de correlação	0,9862
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 40 vezes e os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=40	Nível 1	Nível 2
Média (mg/dL)	3,61	7,74
D.P. (mg/dL)	0,05	0,06
C.V. (%)	1,4	0,8

EXATIDÃO. As amostras foram processadas em duplicata por 10 dias consecutivos, duas vezes por dia. Os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=40	Nível 1	Nível 2
Média (mg/dL)	3,61	7,74
D.P. (mg/dL)	0,06	0,08
C.V. (%)	1,6	1,1

SENSIBILIDADE METODOLÓGICA. 0.0 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 ≥ 1 mega ohm ou condutividade ≤ 1 microsiemens e concentração de silicatos $< 0,1$ mg/L (água tipo II). Para o enxágüe da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade $\geq 0,1$ megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágüe final utilizar água tipo II.

APRESENTAÇÃO.

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

Linha Bulk: 1 x 500mL

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, C.W., J. Biol. Chem. 18:215 (1914)
4. Fiske, C.H., Subbarow, Y., J. Biol. Chem. 66:275 (1925)
5. Lowry, O.H., 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.

SÍMBOLOS UNIVERSAIS UTILIZADOS EM EMBALAGENS DE DIAGNÓSTICO IN VITRO

	CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO		REAGENTE		FABRICADO POR
	O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTES		DATA DE VALIDADE (ÚLTIMO DIA DO MÊS)		NÚMERO DO LOTE
	LIMITE DE TEMPERATURA (CONSERVAR A)		PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO		NÚMERO DO CATÁLOGO
	USO VETERINÁRIO				