

QUIMIFOS – Fósforo

Molibdato

ANVISA: 10159820253



Finalidade

Reação colorimétrica para determinação quantitativa de fósforo em amostras de soro, plasma, urina e líquido amniótico animal. 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 hidroeletrólítico, prendendo-se geralmente a problemas metabólicos ou endócrinos. O teor de fósforo 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 à do cálcio, pois a permanência deste no intestino resulta na formação do 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 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 paratireoide. 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.

Preparo do Paciente

Cães e Gatos

Jejum recomendado é de 8 a 12 horas (bioquímica) e em filhotes de 4 a 6h podendo beber água. Deixar em repouso por 30 minutos.

Bovinos

Jejum geralmente não obrigatório. Evitar estresse pois pode alterar o lactato.

Equinos

Jejum geralmente não obrigatório. Evitar estresse pois pode alterar o lactato.

Aves

Jejum recomendado de 2 a 4 horas. Evitar estresse do animal.

Mamíferos pequenos

Jejum geralmente não recomendado. Evitar estresse do animal.

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 lipêmicos exigem um branco de amostra. Adicione 0,02 mL (20 µL) de amostra a 1,0 mL 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)

$$\text{Fósforo Amostra (mg/dL)} = \frac{\Delta \text{ Abs. Amostra}}{\Delta \text{ Abs. Padrão}} \times \text{concentração padrão}$$

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 ficar 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

- A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
- 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 purificada). Para o enxágue da vidraria a água pode ser purificada, com resistividade $\geq 0,1$ megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágue final também utilizar água purificada.

Apresentação

Linha Bioquímica Geral: 7 x 15mL + 1 x 10mL
Linha Bulk: 1 x 500mL

Referência bibliográfica

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

Revisão: Fevereiro de 2026

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		

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

SAC Ebram

Para mais informações, entrar em contato com o SAC 0800 500 2424 ou ☎ 11 2574 7110
sac@ebram.com | ebram.com.br

