



## QUIMIFOS - Fósforo

### Molibdato

REG. MS: 10159820253

### EGRAM 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: Julho/2022

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

Fósforo Inorgânico + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + Molibdato de Amônio não reduzido → Complexo fosfomolibdato

### METODOLOGIA. Molibdato UV

**SIGNIFICADO CLÍNICO.** No soro, a alteração de fosfatemia independe muitas vezes de qualquer distúrbio hidroelectrolítico, 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 proposto pelo NIST. 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.

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

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

### 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 ictéricas (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 método de referência proposto pelo CLSI e no padrão ao Material de Referência Padrão proposto pelo NIST.

**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:

Tubos	1. Branco	2. Padrão	3. 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 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 1,0mL 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

$$\text{Fósforo Amostra} = (0,140 / 0,120) \times 5,1 = 5,95 \text{ mg/dL}$$

$$\text{Fósforo Amostra} = 5,95 \text{ mg/dL} = 0,0595 \text{ g/L}$$

$$\text{Fósforo na Urina} = 0,0595 \times 20 \times 1,25$$

$$\text{Fósforo na Urina} = 1,48 \text{ g/24h}$$

**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.

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

Crianças: 3,0 - 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	50
Intervalo dos resultados	0,7 - 11,9 (mg/dL)
Coeficiente 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 duplata 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  $\geq 1$  mega ohm ou condutividade  $\leq 1$  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  $\leq 10$  microsiemens. No enxágüe final utilizar água tipo II.

## APRESENTAÇÃO.

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

Linha Bulk: 1 x 500mL

Linha SAT: 2 x 45mL

## 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