



Fosfatemia UNIM

AA

Método UV para la determinación de fósforo inorgánico (Pi) en suero, plasma u orina

SIGNIFICACION CLINICA

El fósforo se encuentra en el organismo formando parte de compuestos orgánicos (proteínas, lípidos, carbohidratos, ácidos nucleicos, etc.) o como fosfatos inorgánicos, cumpliendo diversas funciones (transporte de energía, estructura de los tejidos, mantenimiento del pH de los líquidos corporales).

Los tejidos óseo y muscular lo contienen como constituyente esencial y es notable su participación en la composición del tejido nervioso.

Su concentración en circulación está regulada entre otros factores por los niveles de vitamina D y las glándulas endocrinas, observándose variaciones fisiológicas de acuerdo a la edad, ingesta, actividad física, embarazo, etc.

Existen situaciones patológicas en las que se altera este equilibrio, produciéndose anormalidades en la concentración de fósforo circulante.

Niveles elevados de fósforo sérico son encontrados en el hipoparatiroidismo, mientras que el hiperparatiroidismo conduce a la situación contraria. También puede encontrarse hiperfosfatemia por hipervitaminosis D y diversos trastornos renales, mientras que la hipofosfatemia se relaciona con deficiencias de vitamina D y defectos en la reabsorción de fósforo a nivel renal.

FUNDAMENTOS DEL METODO

El fósforo inorgánico (Pi) reacciona en medio ácido con el molibdato para dar un complejo fosfomolibídico que se mide espectrofotométricamente a 340 nm.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución de molibdato de amonio 2 mmol/l en ácido sulfúrico 1%.

S. Standard*: solución estabilizada de fosfatos equivalente a 4 mg/dl de fósforo inorgánico.

REACTIVOS NO PROVISTOS

Calibrador A plus de Wiener lab.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar.

PRECAUCIONES

Los Reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

El Reactivo A es corrosivo. R34: provoca quemaduras. S24/25: evitar el contacto con los ojos y la piel. S26: en caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico. S28: en caso de contacto con la piel, lávese inmediata y abundantemente

con agua. S37/39: usar guantes adecuados y protección para los ojos/la cara.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Los Reactivos Provistos son estables a temperatura ambiente hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Cuando el espectrofotómetro ha sido llevado a cero con agua destilada, la lectura de absorbancia del Reactivo A no debe ser superior a 0,500 D.O. En caso contrario, desechar.

MUESTRA

Suero, plasma u orina

a) Recolección: obtener suero de la manera usual o plasma con EDTA o citrato.

También puede realizarse la determinación en orina. En este caso, recoger orina de 24 horas en un recipiente que contenga 2 ml de ácido clorhídrico concentrado. Homogeneizar y medir la diuresis. Tomar una alícuota, centrifugar o filtrar y efectuar una dilución 1:10 en agua destilada (1 ml de orina + 9 ml de agua destilada). Proceder en la misma forma que la descripta en PROCEDIMIENTO.

b) Aditivos: en caso de que la muestra a utilizar sea plasma, se recomienda el uso de Anticoagulante W o TP de Wiener lab. para su obtención.

c) Sustancias interferentes conocidas:

- No se observan interferencias por bilirrubina hasta 58 mg/l.
- La hemólisis o lipemia son causa de resultados erróneos. Se recomienda procesar un blanco de muestras para evitar estas interferencias. Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: el suero o plasma debe ser separado de los glóbulos rojos dentro de las 2 horas de extraída la muestra, debido a que los eritrocitos contienen fosfatos orgánicos lábiles que pueden conducir a resultados falsamente elevados.

El fósforo inorgánico es estable en el suero 8 horas a temperatura ambiente. En caso de no procesarse dentro de ese lapso, se puede refrigerar (2-10°C) hasta 7 días.

La orina de 24 horas es estable 7 días refrigerada (2-10°C).

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Cubetas espectrofotométricas
- Reloj o timer

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 340 nm (Hg 334 ó 366 nm)
- Temperatura de reacción: temperatura ambiente
- Tiempo de reacción: 10 minutos
- Volumen de muestra: 10 ul
- Volumen de reacción final: 1,01 ml

PROCEDIMIENTO

En tres cubetas marcadas B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido), agregar:

	B	S	D
Standard	-	10 ul	-
Muestra	-	-	10 ul
Reactivos A	1 ml	1 ml	1 ml

Incubar 10 minutos a temperatura ambiente. Luego leer en espectrofotómetro a 340 nm (Hg 334 ó 366 nm), llevando el aparato a cero con el blanco.

ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL

La reacción final es estable 20 minutos, por lo que la absorbancia debe ser leída en ese lapso.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Suero o plasma:

$$\text{Fósforo inorgánico (Pi) (mg/dl)} = D \times f$$

$$\text{donde } f = \frac{4 \text{ mg/dl}}{S}$$

Orina:

$$\text{Pi (g/24 horas)} = \frac{D}{S} \times 0,040 \times 10 \times V = \frac{D}{S} \times 0,4 \times V$$

donde:

0,040 g/l = 4 mg/dl = concentración del Standard

10 = factor de dilución

V = volumen de la diuresis expresado en litros/24 horas

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Si la muestra a ensayar es suero, procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con concentraciones conocidas de fósforo, con cada determinación. En el caso de muestras de orina, utilizar un control con base de orina.

VALORES DE REFERENCIA

Suero o plasma

Adultos: 2,5 - 5,6 mg/dl

Este rango se obtuvo de muestras provenientes de 120

individuos habitantes de la ciudad de Rosario (Argentina), de ambos sexos (entre 20 y 45 años), sin síntomas de enfermedad paratiroidea, renal o hepática o de deficiencia de vitamina D.

Niños: 4,0 - 7,0 mg/dl

Orina

0,3 - 1,0 g/24 horas

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

$$\text{Pi (mg/dl)} \times 0,323 = \text{Pi (mmol/l)}$$

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.
- Todo el material de vidrio usado (incluso en la recolección de muestra) debe estar libre de fosfatos. Se recomienda, para su limpieza, usar Noion de Wiener lab.
- Para lograr una mejor performance en los resultados, se recomienda procesar un Blanco de Muestra con cada determinación, reemplazando el Reactivo por solución fisiológica. Este procedimiento es indispensable en el caso de muestras turbias, ictéricas, lipémicas o hemolizadas. La absorbancia del Blanco de Muestra debe restarse de la obtenida para el Desconocido para efectuar los cálculos.

PERFORMANCE

Los ensayos fueron realizados en analizador automático Express Plus™.

a) Reproducibilidad: procesando replicados de la misma muestra, en un mismo día, se obtuvieron los siguientes datos:

Nivel	D.S.	C.V.
3,6 mg/dl	± 0,09 mg/dl	2,64 %
7,5 mg/dl	± 0,16 mg/dl	2,18 %

Procesando la misma muestra en diferentes días, se obtuvo:

Nivel	D.S.	C.V.
3,5 mg/dl	± 0,11 mg/dl	3,09 %
7,3 mg/dl	± 0,22 mg/dl	2,98 %

b) Recuperación: agregando cantidades conocidas de fosfato inorgánico a distintas muestras, se obtuvo una recuperación entre 98,4 y 103,5 %.

c) Linealidad: la reacción es lineal hasta 16 mg/dl. En caso de obtener valores de fósforo inorgánico superiores, debe diluirse la muestra 1:2 con solución fisiológica y repetir la determinación multiplicando por 2 el resultado obtenido.

d) Límite de detección: el menor cambio de concentración detectable será de 0,11 mg/dl.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso. Para la calibración debe emplearse **Calibrador A plus** de Wiener lab.

PRESENTACION

- 1 x 100 ml (Cód. 1382321).
- 4 x 20 ml (Cód. 1009311).

- 6 x 20 ml (Cód. 1009256).
- 6 x 20 ml (Cód. 1009614).

BIBLIOGRAFIA

- Henry, R.J.; Cannon, D.C.; Winkelman, J.W. - "Clinical Chemistry, Principles and Techniques" - Harper and Row, Publishers, 1974.
- Daly, J. A. and Ertlingshausen - Clin. Chem. 18:263, 1972.
- Amador, E. and Urban, J. - Clin. Chem. 18:601, 1972.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

SIMBOLOS

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

	Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Uso diagnóstico "in vitro"
	Contenido suficiente para <n> ensayos
	Fecha de caducidad
	Límite de temperatura (conservar a)
	No congelar
	Riesgo biológico
	Volumen después de la reconstitución
	Contenido
	Número de lote
	Elaborado por:
	Nocivo
	Corrosivo / Caustico
	Irritante
	Consultar instrucciones de uso
	Calibrador
	Control
	Control Positivo
	Control Negativo
	Número de catálogo

Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cetola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Cert. N°: 38/92

Wiener lab.
2000 Rosario - Argentina
UR120831