



FÓSFORO SL

Números de catálogo: 117-10
117-30
117-99

Presentación: R1: 1 x 100 mL, R2: 1 x 25 mL
R1: 3 x 100 mL, R2: 1 x 75 mL
R1: 1 x 100 0 mL, R2: 1 x 250 mL

USO

Equipo diagnóstico para la determinación de fósforo inorgánico en suero. Para uso diagnóstico *in vitro*.

PRECAUCION

Evitar la ingestión y el contacto con la piel y los ojos. Vea la hoja de seguridad de los materiales.

REACTIVOS

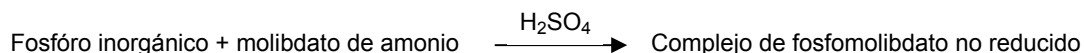
- Reactivo Blanco de Fósforo (R1): una solución acidificada que contiene un tensoactivo (pH < 1 a 25°C).
- Reactivo de Molibdato de Fósforo (R2): una solución acidificada que contiene 2.8 mmol/L de molibdato de amonio (pH < 1 a 25°C).
- Estándar de Fósforo: 1 x 15 mL de una solución que contiene 2 mmol (6.2 mg/dL) de fósforo. (incluido solo en los catálogos 117-10, 117-30).

ANTECEDENTES

Las concentraciones elevadas de fósforo inorgánico en suero (hiperfosfatemia) suelen ser el resultado de una sobredosis de vitamina D, hipoparatiroidismo o insuficiencia renal. Las concentraciones séricas bajas (hipofosfatemia) suele deberse a raquitismo, hiperparatiroidismo o síndrome de Fanconi (un defecto en la absorción de fósforo y otros metabolitos a partir de la filtración glomerular). (1)

La mayoría de los métodos para la determinación del fósforo inorgánico se basan en la reducción de un complejo de fosfomolibdato con un agente reductor, dando por resultado la posterior formación de molibdeno azul. En 1972, Daly y Ertingshausen introdujeron un método para la determinación del fósforo inorgánico, el cual medía el complejo de fosfomolibdato no reducido. Este procedimiento es una modificación de la técnica de Daly y Ertingshausen. (2)

PRINCIPIO



El fósforo inorgánico reacciona con el molibdato de amonio en presencia de ácido sulfúrico para producir un complejo de fosfomolibdato no reducido.

El incremento en la absorbancia a 340 nm es directamente proporcional a la concentración de fósforo inorgánico en la muestra.

PREPARACION DEL REACTIVO

Los reactivos son proporcionados listos para usar.

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO DE LOS REACTIVOS

Los reactivos incluidos son estables hasta la fecha de caducidad especificada en las etiquetas a 18-26°C.

Todos los datos de estabilidad se basan en estudios en tiempo real en los laboratorios de Diagnostic Chemicals Limited.

DETERIORO DEL REACTIVO

Las soluciones de los reactivos deben ser claras. Una turbidez indicaría deterioro.

INSTRUMENTOS

Puede usarse cualquier instrumento con control de temperatura de $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ que sea capaz de leer la absorbancia con exactitud, con una sensibilidad de 0.001 de absorbancia a 340 nm. El ancho de banda deberá ser de 10 nm o menos, la desviación de la luz de 0.5% o menos y una exactitud de longitud de onda dentro de 2 nm.

RECOLECCION Y PREPARACION DE LA MUESTRA

La muestra de elección es suero fresco, claro y no hemolizado. Las muestras podrán guardarse hasta por 7 días a una temperatura de 2-8°C y hasta por 6 meses cuando se congelen a una temperatura de -20°C. El suero debe separarse rápidamente de los eritrocitos debido a que éstos contienen concentraciones de fosfato varias veces mayores que las encontradas en los sueros (3).

PREPARACION DE LA CRISTALERIA

Toda la cristalería utilizada en el análisis de fósforo deberá estar libre de cualquier rastro de detergente que contenga fósforo. Se recomienda el uso de artículos de plástico desechables.

SUBSTANCIAS DE INTERFERENCIA

Se evaluaron las interferencias por ictericia, lipemia y hemólisis para este método de fósforo en un analizador Hitachi utilizando un criterio importante de variación $>10\%$ respecto al control.

No se encontró una interferencia importante por ictericia para este método. Se estudiaron las concentraciones de bilirrubina de 0-684 $\mu\text{mol/L}$ (0-40 mg/dL) utilizando una muestra de fósforo 1.10 mmol/L (3.4 mg/dL).

Se estudiaron interferencias lipémicas utilizando muestras de Intralipid 0-1000 mg/dL [0-33.87 mmol/L (3000 mg/dL) de triglicéridos].

Se obtuvieron resultados aceptables a una concentración de 600 mg/dL de Intralipid. Se encontró una interferencia positiva a 600 mg/dL de Intralipid a 7.8% [20.32 mmol/L (1800 mg/dL) de triglicéridos] para una muestra de fósforo de 1.03 mmol/L (3.2 mg/dL).

Se estudiaron niveles de hemoglobina de 0-155 $\mu\text{mol/L}$ (0-1000 mg/dL) con resultados aceptables a una concentración de 62.0 $\mu\text{mol/L}$ (400 mg/dL).

A una concentración de hemoglobina de 62.0 $\mu\text{mol/L}$ (400 mg/dL), se obtuvo una interferencia positiva de 8.3% en una muestra de fósforo de 1.05 mmol/L (3.2 mg/dL).

Se puede encontrar un resumen de la influencia de medicamentos en pruebas de laboratorio clínico consultando Young, D.S. (3).

PROCEDIMIENTO

Materiales Proporcionados

Se incluyen los reactivos necesarios para la determinación de fósforo inorgánico.

Materiales Requeridos

1. Un anizador que reúna los requisitos mencionados en la sección de Instrumentos.
2. Cubetas de 1 cm o una celda de flujo que transmita luz a 340 nm.
3. Tubos de ensayo del tamaño adecuado.
4. Pipetas del tamaño adecuado.
5. Agua desionizada.
6. Un cronómetro apropiado.

Condiciones

Genéricas	Analizador	Automático
Longitud de onda	340 nm	340 nm
Temperatura	18-26°C	37°C
Paso de luz	1 cm	Dependiendo del instrumento
Tipo de reacción	de punto final	de punto final
Tiempo de reacción.....	10 minutos	5 minutos
Volumen de muestra	10 µL	6 µL
Volumen de reactivo	R1: 1.0 mL R2: 200 µL	R1: 250 µL R2: 50 µL
Volumen total	11.210 mL	306 µL
Relación muestra/reactivo	1:100:20	1:42:8

Procedimiento

1. En tubos de ensayo por separado, pipetee 10 µL de agua desionizada, estándar o suero que se quiera analizar.
2. Agregue 1.0 mL de blanco de reactivo (R1) y mezcle.
3. Agregue 200 µL de reactivo de molibdato (R2) y mezcle.
4. Incube la mezcla por 10 minutos a una temperatura de 18-26°C.
5. Determine la absorbancia del estándar (As) y de cada suero desconocido a 340 nm utilizando la muestra de agua desionizada como blanco de reactivo.

CALIBRACION

Se incluye un estándar de fósforo con los reactivos de catálogo No. 117-10 y 117-30, y pueden usarse de acuerdo con las instrucciones para la calibración del procedimiento. Pueden utilizarse otros estándares o calibradores adecuados de acuerdo con las instrucciones para calibrar el procedimiento.

Los análisis no automatizados debieran calibrarse con cada corrida. La frecuencia de calibración en sistemas automatizados depende del sistema y los parámetros empleados.

CONTROL DE CALIDAD

Debieran analizarse un suero control de nivel normal y otro de nivel anormal con cada corrida de muestras y los resultados deberán caer dentro de ± 2 desviaciones estándar del valor establecido.

CALCULOS Y RESULTADOS

Resultados

La concentración de fósforo inorgánico se expresa en mmol/L (mg/dL).

Cálculo

$$\text{Fósforo en mmol/L (mg/dL)} = \frac{A}{A_s} \times \text{concentración del estándar}$$

A = absorbancia de la muestra desconocida

A_s = absorbancia del estándar

Ejemplo

$$\begin{aligned} \text{Fósforo en mmol/L (mg/dL)} &= \frac{0.149}{0.262} \times 2.0 \text{ mmol/L (6.2 mg/dL)} \\ &= 1.0 \text{ mmol/L (3.1 mg/dL)} \end{aligned}$$

0.149 = absorbancia de la muestra desconocida

0.262 = absorbancia del estándar

2 mmol/L (6.2 mg/dL) = concentración del estándar

Limitaciones

Una muestra con una concentración de fósforo que exceda el límite de linealidad, deberá diluirse con solución salina a 0.9% y deberá reanalizarse incorporando el factor de dilución en el cálculo del resultado.

VALORES ESPERADOS (5)

0.87-1.45 mmol/L (2.7-4.5 mg/dL)

Se sugieren estos valores como referencia. Se recomienda que cada laboratorio establezca el rango normal para el área en que está localizado.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Estas características de rendimiento se obtuvieron en los laboratorios de DCL usando procedimientos automatizados, a menos que se indique lo contrario.

Estudio de Recuperación

Se añadió fósforo inorgánico a un conjunto de sueros humanos para aumentar la concentración de fósforo en 0.18 mmol/L (0.6 mg/dL) y 0.37 mmol/L (1.1 mg/dL). La recuperación del fósforo agregado tuvo un promedio del 98%.

Rango Reportable (NCCLS EP6-P)

El rango reportable en una proporción de muestra / reactivo de 1:50 es de 0.03-6.46 mmol/L (0.1-20 mg/dL).

Estudios de Precisión (NCCLS EP5-T2)

Se recopilaron los resultados con dos sueros control utilizando un solo lote de reactivo en 40 corridas conducidas por 20 días.

Nivel		DE Total		CV Total %	DE dentro de la corrida		CV dentro de la corrida %
mmol/L	mg/dL	mmol/L	mg/dL		mmol/L	mg/dL	
1.08	3.4	0.019	0.06	1.7	0.016	0.05	1.5
2.41	7.5	0.033	0.10	1.4	0.015	0.05	0.6

Exactitud (NCCLS EP9-P)

Se hizo una comparación entre el rendimiento de este método (y) con el de otro método similar para la determinación de fósforo (x) en un analizador Hitachi.

Las muestras séricas de 44 pacientes oscilaron de 0.71-6.48 mmol/L (2.2-20.1 mg/dL) dando un coeficiente de correlación de 0.9998. El análisis de regresión lineal dio la siguiente ecuación:

$$\text{Este método} = 0.99 (\text{método de referencia}) + 0.00 \text{ mmol/L (0.0 mg/dL)}.$$

REFERENCIAS

1. Burtis, C.A., Ashwood, E.R., Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. W.B. Saunders Co., Toronto, pp 1950-1952 (1994).
2. Daly, J.A. and Ertingshausen, G., Direct Method for Determining Inorganic Phosphorus in Serum with the Centrifichem, Clin.
3. Chem. 18:263, (1972).
4. Kaplan, L., Pesce, A.J., Clinical Chemistry, Theory, Analysis, Correlation, Third Edition, Mosby, p. 552 (1996).
5. Young, D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, AACC Press, Third Edition, Washington, 1990.
6. Burtis, C.A., Ashwood, E.R., Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. W.B. Saunders Co., Toronto, p. 2202 (1994).