

FÓSFORO UV Liquiform

Instruções de Uso

Ref.: 12

ANVISA 10009010051

Finalidade . Sistema para determinação do Fósforo inorgânico por fotometria em ultravioleta, com reação de ponto final.

Uso profissional.

[Somente para uso diagnóstico in vitro.]

Princípio . O Fósforo inorgânico reage com o molibdato de amônio na presença de ácido sulfúrico resultando na formação de um complexo fosfomolibdato não reduzido. A absorvância em 340 nm do complexo formado é proporcional à concentração de Fósforo inorgânico na amostra.

Fósforo inorgânico + H_2SO_4 + Molibdato de Amônio $\longrightarrow$
Complexo Fosfomolibdato não reduzido

Características do sistema . O método direto para a determinação do Fósforo inorgânico no soro e urina desenvolvido por Daly e Ertingshausen e modificado pela Labtest, representa um avanço metodológico eficiente e confiável.

O sistema é composto de um único reagente pronto para uso, com estabilidade que garante desempenho consistente em sua forma líquida original e manutenção das condições ótimas da reação.

São utilizados apenas 0,01 mL da amostra e o sistema permite a obtenção de resultados em apenas 5 minutos pelo método manual.

Os dados da repetitividade e da reprodutibilidade demonstram que o sistema Fósforo UV Liquiform possui uma robustez extremamente desejável e valiosa para um sistema analítico.

O sistema é facilmente aplicável a analisadores automáticos e semiautomáticos capazes de medir com exatidão a absorvância em 340 nm.

Metodologia . Daly e Ertingshausen modificado.

Reagentes

1. **[R1]** - Reagente de Cor - Armazenar entre 2 - 8 °C.

Contém ácido sulfúrico 600 mmol/L; molibdato de amônio 2,0 mmol/L e surfactante.

2. **[CAL]** - Padrão - 5,0 mg/dL - Armazenar entre 2 - 8 °C.

Os reagentes não abertos, quando armazenados nas condições indicadas, são estáveis até a data de expiração impressa no rótulo. Durante o manuseio os reagentes estão sujeitos a contaminações de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

Precauções e cuidados especiais

Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente.

O Reagente de Cor é cáustico e pode produzir queimaduras. No caso de contato com os olhos deve-se lavar imediatamente com grande quantidade de água e procurar auxílio médico. Deve-se utilizar os equipamentos de proteção adequados para manipular reagentes cáusticos.

A vidraria deve ser adequadamente lavada e enxaguada porque o fósforo inorgânico é um componente comum da maioria dos detergentes.

Não utilizar o Reagente de Cor quando a sua absorvância medida a 340 nm contra a água for maior que 1,500.

Materiais necessários e não fornecidos

1. Fotômetro capaz de medir, com exatidão, a absorvância em 340 nm.
2. Pipetas para medir amostras e reagente.
3. Banho-maria a 37 °C.
4. Cronômetro.

Amostra

Deve ser criado um Procedimento Operacional Padrão (POP) que estabeleça procedimentos adequados para coleta, preparação e armazenamento da amostra. Enfatizamos que os erros devidos à amostra podem ser muito maiores que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

Como a ingestão de glicose reduz o valor do fósforo inorgânico, deve-se obter a amostra de sangue após jejum de 8 horas. Pode-se utilizar soro, plasma (heparina) e urina. Plasmas citratados, oxalatados, fluoretados ou com EDTA produzem resultados falsamente diminuídos.

A concentração do fósforo é estável 2 dias entre 15 - 25 °C, uma semana entre 2 - 8 °C e três semanas quando congelado. Em amostras de urina acidificadas com HCl a estabilidade é de até 6 meses entre 2 - 8 °C.

O fósforo inorgânico em amostras de sangue total pode aumentar ou diminuir com o tempo dependendo do tipo de amostra, temperatura e duração de armazenamento. Valores no plasma ou soro aumentam devido ao contato prolongado com as células a temperatura ambiente ou 37 °C. É importante separar o soro ou plasma até 1 hora após a coleta.

Amostras hemolisadas produzem resultados falsamente elevados devido à contaminação do plasma ou soro com o fosfato das hemácias. Esta interferência não é corrigida utilizando o branco da amostra porque não é somente uma interferência fotométrica.

Colher a amostra de urina em um frasco contendo 20 mL de HCl 6M (50% v/v). Durante a coleta a amostra deve ser bem homogeneizada para evitar a precipitação de complexo de fosfato.

Como nenhum teste conhecido pode assegurar que amostras de sangue não transmitem infecções, todas elas devem ser consideradas como potencialmente infectantes. Portanto, ao manuseá-las, devem-se seguir as normas estabelecidas para biossegurança.

Para descartar os reagentes e o material biológico sugerimos aplicar as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

Interferências

Amostras com concentrações de bilirrubina acima de 4 mg/dL e triglicérides acima de 400 mg/dL produzem resultados falsamente elevados por interferência fotométrica. A ação destes interferentes pode ser minimizada com o uso do branco da amostra que é aplicável para valores da bilirrubina até 32 mg/dL e triglicérides até 900 mg/dL.

Branco da amostra . Misturar 1,0 mL de NaCl 150 mmol/L (0,85 %) com 0,01 mL da amostra. Medir a absorbância em 340 nm acertando o zero com água destilada ou deionizada. Subtrair a absorbância assim obtida, da absorbância do teste e calcular a concentração. Este sistema de correção só pode ser aplicado nos casos em que a amostra produz uma interferência fotométrica.

Procedimento

Dosagem na urina . Quando a amostra de 24 horas não for acidificada durante a coleta, adicionar 20 mL de HCl 6M, misturar, esperar 60 minutos e tomar a alíquota para o ensaio. A amostra acidificada deve ser bem misturada e diluída 1:10 (0,1 mL da amostra + 0,9 mL de água deionizada) antes da utilização. Multiplicar o resultado obtido por 10.

Tomar 3 tubos de ensaio e proceder como a seguir:

	Branco	Teste	Padrão
Amostra	-----	0,01 mL	-----
Padrão	-----	-----	0,01 mL
Reagente de Cor	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Misturar e incubar em banho maria a 37 °C durante 5 minutos e determinar a absorbância do Teste e do Padrão em 340 nm, acertando o zero com o branco. A absorbância é estável por 30 minutos.

O procedimento sugerido para a medição é adequado para fotômetros cujo volume mínimo de solução para leitura é igual ou menor que 1,0 mL. Deve ser feita uma verificação da necessidade de ajuste do volume para o fotômetro utilizado. Os volumes de amostra e reagente podem ser modificados proporcionalmente sem prejuízo para o desempenho do teste e o procedimento de cálculo se mantém inalterado.

Em caso de redução dos volumes é fundamental que se observe o volume mínimo necessário para a leitura fotométrica. Volumes da amostra menores que 0,01 mL são críticos em aplicações manuais e devem ser usados com cautela porque aumentam a imprecisão da medição.

Cálculos

$$\text{Fósforo inorgânico (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbância do Teste}}{\text{Absorbância do Padrão}} \times 5$$

Exemplo

A Teste = 0,190
A Padrão = 0,247

$$\text{Fósforo inorgânico (mg/dL)} = \frac{0,190}{0,247} \times 5 = 3,8$$

Devido a grande reprodutibilidade que pode ser obtida com a metodologia, pode-se utilizar o método do fator.

$$\text{Fator de calibração} = \frac{5}{\text{Absorbância do Padrão}}$$

$$\text{Fósforo inorgânico (mg/dL)} = \text{Absorbância do teste} \times \text{Fator}$$

$$\text{Urina (mg/24 horas)} = \frac{\text{mg/dL} \times \text{volume (mL)}}{100}$$

Exemplo

$$\text{Fator} = \frac{5}{0,247} = 20,2$$

$$\text{Fósforo inorgânico (mg/dL)} = 0,190 \times 20,2 = 3,8$$

Calibração . O Padrão é rastreável ao Standard Reference Material (SRM) 186 I do National Institute of Standards and Technology (NIST).

Calibrações manuais

Obter o fator de calibração ao usar novo lote de reagentes ou quando o controle interno da qualidade indicar.

Sistemas automáticos

Branco de reagentes: água ou solução de cloreto de sódio 150 mmol/L (0,85 %);
Padrões: usar calibradores protéicos. As concentrações de fósforo nos produtos da linha Calibra da Labtest são rastreáveis ao SRM 186 I do NIST.

Intervalo de calibrações

Calibração ao mudar de lote ou quando o controle interno da qualidade indicar.

Linearidade

A reação é linear até 20 mg/dL. Para valores maiores diluir a amostra com NaCl 0,85%, realizar nova determinação e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição. Diluir a amostra de tal modo que o valor encontrado

se situe entre 4 e 8 mg/dL. Sugerimos a verificação da linearidade metodológica e fotométrica, no mínimo semestralmente, utilizando amostras com valores até 20 mg/dL.

Controle interno da qualidade . O laboratório deve manter um programa de controle interno da qualidade que defina claramente os regulamentos aplicáveis, objetivos, procedimentos, critérios para especificações da qualidade e limites de tolerância, ações corretivas e registro das atividades. Materiais de controle devem ser utilizados para avaliar a imprecisão e desvios da calibração. Sugere-se que as especificações para o coeficiente de variação e o erro total sejam baseadas nos componentes da variação biológica (VB).^{8,9}

Sugere-se utilizar as preparações estabilizadas da linha Qualitrol Labtest para controle interno da qualidade em ensaios de química clínica.

Intervalo de Referência⁹ . Os intervalos devem ser usados apenas como orientação. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça, na população atendida, seus próprios intervalos de referência.

Soro (mg/dL)	
Crianças	4,0 a 7,0
Adultos	2,5 a 4,5

Urina: 400 a 1300 mg/24 horas

A excreção de fosfato urinário varia com a idade, massa muscular, dieta, função renal, concentração de paratormônio e hora do dia.

Conversão: Unidades Convencionais (mg/dL) x 0,323 = Unidades SI (mmol/L).

Características do desempenho⁷

Exatidão . Em duas amostras com concentrações de fósforo inorgânico nos níveis de decisão foram adicionadas quantidades diferentes do analito, obtendo-se uma recuperação entre 96 e 106%. O erro sistemático proporcional médio obtido em um valor de 4,0 mg/dL foi igual a 0,04 mg/dL ou 1,0%.

Especificidade . O método proposto foi comparado com um método similar ensaiando em duplicata 40 amostras de soro com valores situados entre 2,5 e 10 mg/dL. A avaliação estatística dos resultados resultou na equação da regressão: $y = 1,013x - 0,135$ e em um coeficiente de correlação igual a 0,995. O erro sistemático total (constante e proporcional) verificado no nível de decisão (5,0 mg/dL) foi igual a 0,200 mg/dL ou 4,0%. Como as amostras foram obtidas aleatoriamente em pacientes de ambulatório e pacientes hospitalizados, pode-se inferir que o método tem uma especificidade metodológica adequada.

Repetitividade - imprecisão intraensaio

	N	Média	DP	CV (%)
Amostra 1	20	3,0	0,06	2,1
Amostra 2	20	7,0	0,12	1,6

Reprodutibilidade - imprecisão total

	N	Média	DP	CV (%)
Amostra 1	20	3,2	0,15	4,7
Amostra 2	20	7,7	0,16	2,1

Sensibilidade metodológica . Uma amostra protéica não contendo fósforo foi utilizada para calcular o limite de detecção do ensaio tendo sido encontrado um valor igual a 0,14 mg/dL, equivalente à média de 20 ensaios mais dois desvios padrão. Utilizando-se a absorbância do padrão como parâmetro, o limite de detecção fotométrica é 0,02 mg/dL correspondendo a uma absorbância igual a 0,001.

Efeitos da diluição da matriz . Duas amostras com valores iguais a 11 e 15 mg/dL foram utilizadas para avaliar a resposta do sistema nas diluições da matriz com NaCl 0,85%. Usando fatores de diluição que variaram de 2 a 8 encontrou-se recuperações entre 93 e 100%.

Significado clínico . Embora a insuficiência renal crônica e o hipoparatiroidismo sejam as duas causas mais comuns de hiperfosfatemia, várias condições podem causar hiperfosfatemia transitória e assintomática.

Como o músculo constitui o grande reservatório de fosfato é evidente que a rabdomiólise produz hiperfosfatemia grave.

Outras condições que promovem a liberação do fosfato intracelular e levam à hiperfosfatemia incluem a hipertermia maligna e a quimioterapia antilástica.

A hiperfosfatemia pode ocorrer após administração repetida de enemas de retenção ou laxativos contendo fosfato.

Níveis diminuídos de fósforo inorgânico são encontrados no hiperparatiroidismo, na intoxicação pelo chumbo e na alimentação parenteral.

A excreção urinária varia com a dieta e é essencialmente equivalente à ingesta dietética.

Observações

1. A limpeza e secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para a 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 megaohm.cm ou condutividade ≤ 1 microsiemens/cm e concentração de silicatos $< 0,1$ mg/L (água tipo II). Para o enxágue da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade $\geq 0,1$ megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágue final utilizar água tipo II. Quando a coluna deionizadora está com sua capacidade saturada ocorre a produção de água alcalina com liberação de vários íons, silicatos e substâncias com grande poder de oxidação ou redução, que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas alterando os resultados de modo imprevisível. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

3. O uso de detergente iônico para a limpeza do material pode ser uma fonte de contaminação com íons fosfato.

4. Para uma revisão das fontes fisiopatológicas e medicamentosas de interferência nos resultados e na metodologia sugere-se consultar: www.fxol.org/.

Referências

1. Balon M, Fernandez C, Muñoz MA. Direct determination of Inorganic Phosphorus in serum with a single reagent. Clin Chem 1983; 29:372.

2. Daly JA, Ertlingshausen G. Direct method for determining inorganic phosphate in serum with the "Centrifichem". Clin Chem 1972; 18:263.

3. Inmetro - Boas Práticas de Laboratório Clínico e Listas de Verificação para Avaliação, Qualitymark eds, Rio de Janeiro, 1997.

4. Tonks DB. Quality Control in Clinical Laboratories, Warner-Chilcott Laboratories, Diagnostic Reagents Division, Scarborough, Canada, 1972.

5. Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T. Clin Chem 1981;27:493-501.

6. Young DS. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests. AACC Press, Washington, 1993.

7. Labtest: Dados de Arquivo.

8. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, Base de Datos de Variación Biológica. Disponível em: <<http://www.seqc.es/article/articleview/330/1/170>> (acesso em 04/2006).

9. Burtis CA, Ashwood ER. Textbook of Clinical Chemistry, 4ª. Edição, Philadelphia: W.B. Saunders, 2006: 2251-2318.

10. Basques JC. Especificações da Qualidade Analítica. Labtest Diagnóstica 2005.

Apresentação

Produto	Referência	Conteúdo	
Fósforo UV Liquiform	12-200	 2 X 100 mL	
		 1 X 5,0 mL	
	12-400	 4 X 100 mL	
		 1 X 5,0 mL	
Fósforo UV Liquiform Labmax 560/400	12-4/23	 4 X 23 mL	
		 1 X 5,0 mL	
Fósforo UV Liquiform Linha Audmax i	12-3/30	 3 X 30 mL	
		 1 X 5,0 mL	

Para informações sobre outras apresentações comerciais consulte o site www.labtest.com.br ou entre em contato com o SAC.

O número de testes em aplicações automáticas depende dos parâmetros de programação.

Estão disponíveis aplicações para sistemas automáticos.

Informações ao consumidor

[Termos e Condições de Garantia]

A Labtest Diagnóstica garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções sejam seguidos corretamente.



Labtest Diagnóstica S.A.

CNPJ: 16.516.296/0001-38
Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - CEP: 33240-152
Lagoa Santa, Minas Gerais - Brasil - www.labtest.com.br
Serviço de Apoio ao Cliente | 0800 031 3411 (Ligação Gratuita)
e-mail: sac@labtest.com.br

Ref.: 171125(06)

Copyright by Labtest Diagnóstica S.A.
Reprodução sob prévia autorização

Símbolos utilizados com produtos diagnósticos in vitro

Símbolos usados con productos diagnósticos in vitro

Symbols used with IVD devices

	Conteúdo suficiente para < n > ensaios Contenido suficiente para < n > ensayos Sufficient content for < n > trials		Risco biológico Riesgo biológico Biological risk
	Prazo de validade (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa) Fecha de expiración (aaaa-mm-dd o mm/aaaa) Expiration date (yyyy-mm-dd or mm/yyyy)		Corrosivo Corrosivo Corrosive
	Limite de temperatura (conservar a) Temperatura límite (conservar a) Temperature limit (store at)		Tóxico Tóxico Poison
	Representante Autorizado na Comunidade Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community		Marca CE Marcado CE CE Mark
	Carcinogénico/mutagénico e/ou sensibilizante à respiração Carcinogénico/mutagénico y/o sensibilizante respiratorio Carcinogenic/mutagenic and/or respiratory sensitizer		Atenção Atención Attention
	Tóxico para os organismos aquáticos Tóxico para los organismos acuáticos Toxic for aquatic organisms		Data de fabricação Fecha de fabricación Date of manufacture
	Gases/líquidos combustíveis Gases/líquidos oxidantes Oxidizing gases/liquids		Fabricante Fabricante Manufacturer
	Substância inflamável Sustancia inflamable Flammable substance		Liofilizado Liofilizado Lyophilized
	Período após abertura Período post-abertura Period after-opening		Número do lote Denominación de lote Batch code
	Produto de uso único Producto de un solo uso Single use product		Número do catálogo Número de catálogo Catalog Number
	Consultar instruções de uso Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use		Controle Control Control
	Material Calibrador/Padrão Material Calibrador/Estándar Calibrator/Standard Material		Controle negativo Control negativo Negative control
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro Dispositivo médico para diagnóstico in vitro In vitro diagnostic medical device		Controle positivo Control positivo Positive control
	Reagente contendo micropartículas Reactivo con micropartículas Reagent with microparticles		Reagente Reactivo Reagent
	Identificador único do dispositivo Identificador único del dispositivo Unique device identifier		Pré-Tratamento Pretratamiento Pre-Treatment
	Cartucho contendo reagente Cartucho que contiene reactivo Cartridge containing reagent		Instalar até Instalar hasta Install before

Ref.: 031125 |