

Determinación cuantitativa de fósforo IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Método directo para la determinación de fósforo inorgánico. El fósforo inorgánico reacciona en medio ácido con molibdato amónico formando un complejo fosfomolibdico de color amarillo. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de fósforo inorgánico presente en la muestra ensayada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

El fósforo, es esencial para la formación del tejido óseo y el metabolismo energético celular. Aproximadamente un 85% se encuentra en el hueso y en los dientes.

Niveles bajos de fósforo pueden ser debidos a hipervitaminosis D, hipertiroidismo primario, desordenes renales, ingestión de antiácidos o mala absorción.

Niveles altos son atribuidos a la dieta, metástasis de huesos, alteraciones en el hígado, alcoholismo, diarreas y vómitos^{1,5,6}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R	Molibdato amónico	0,40 mM
Molibdico	Ácido sulfúrico (SO ₄ H ₂)	210 mM
	Detergente	
PHOSPHORUS CAL	Patrón primario acuoso de Fósforo	5 mg/dL

PRECAUCIONES

R: H314-Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACIÓN

Reactivo y Patrón listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita la contaminación durante su uso. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 340 nm $\geq 0,54$.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro ó analizador para lecturas a 340 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio^(Nota 1,2).

MUESTRAS

- Suero o plasma^{1,5}: Libre de hemólisis. El suero o plasma deben separarse lo antes posible de los eritrocitos con el fin de evitar la liberación de fósforo de los hematies. Estabilidad: 7 días a 2-8°C.
- Orina^{1,2} (24 h): Recoger la orina en recipientes conteniendo 10 mL de ácido clorhídrico (ClH) al 10% (v/v) para evitar la precipitación de fosfatos. Ajustar pH 2. Diluir la muestra 1/10 con agua destilada. Mezclar. Multiplicar el resultado por 10 (factor de dilución). Estabilidad: 10 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
 Longitud de onda: 340 nm
 Cubeta: 1 cm paso de luz
 Temperatura: 37°C / 30°C / 25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta^(Nota 4):

	Blanco	Patrón	Muestra
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón ^(Nota 1,3) (µL)	--	10	--
Muestra (µL)	--	--	10

- Mezclar e incubar 5 minutos.
- Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo.

CÁLCULOS

Suero: $\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times 5$ (Conc. Patrón) = mg/dL de fósforo en la muestra

Orina 24 h: $\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times 5 \times \text{vol. (dL) orina/24h}$ = mg/24 h de fósforo

Factor de conversión: mg/dL x 0,323= mmol/L.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA¹

Suero o plasma:

Niños 4,0 – 7,0 mg/dL \cong 1,29 – 2,26 mmol/L
 Adultos 2,5 – 5,0 mg/dL \cong 0,80 – 1,61 mmol/L

Orina:

Adultos 0,4 – 1,3 g /24 h

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,000 mg/dL hasta el límite de linealidad de 35 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (mg/dL)	4,09	7,12	4,11	7,09
SD	0,03	0,046	0,09	0,06
CV (%)	0,62	0,80	2,15	0,80

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,0798 A.

Exactitud: Los reactivos de SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x). El ensayo con 50 muestras dio los siguientes resultados:

Coefficiente de correlación (r)²: 0,8577.

Ecuación de la recta de regresión: y= 0,724x + 0,837.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

No realizar la prueba con muestras hemolizadas ya que los hematies contiene una alta concentración de esteres de fósforo orgánico, que es hidrolizado a fósforo inorgánico durante su conservación, el incremento es de 4-5 mg/dL por día⁵. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación del fosforo^{3,4}.

NOTAS

- PHOSPHORUS CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- La mayoría de detergentes utilizados para el lavado de material contienen quelantes y fosfatos que interfieren en el ensayo. Se recomienda limpiar el material con ácido nítrico diluido y enjuagar abundantemente con agua desionizada.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

BIBLIOGRAFÍA

- Farrell E C. Phosphorus. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1072-1074 and 418.
- Daly J A. et al. Clin Chem 1972; 18 (3): 263-265.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.
- Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref: 1001155

Cont.

Ref: 1001156

R: 2 x 150 mL, CAL: 1 x 5 mL

R: 1 x 100 mL, CAL: 1 x 2 mL