

FÓSFORO INORGANICO

Uso:

El fósforo inorgánico (método UV) es reactivo para la determinación cuantitativa de fósforo inorgánico en suero humano.

Introducción:

La mayoría de fósforo del cuerpo se encuentra en el hueso como la hidroxiapatita. El fosfato restante está presente en forma de fosfato inorgánico y ésteres de fosfato. El fósforo es involucrado en el metabolismo intermediario de los hidratos de carbono y es un componente de otras sustancias fisiológicamente importantes. Por lo tanto, el aumento de fósforo en suero puede ocurrir en hipervitaminosis, hipoparatiroidismo e insuficiencia renal. La reducción de los niveles de fósforo sérico se ve en el raquitismo (deficiencia de vitamina D), hiperparatiroidismo y síndrome de Fanconi.¹

La determinación del fósforo inorgánico se ha basado en la reacción de molibdato con fosfato para producir el complejo fosfomolibdeno azul, que se mide fotométricamente. Sin embargo, muchos de los componentes en estos reactivos son inestables y tuvieron que ser almacenados por separado.² Complejo de fosfomolibdato no reducido se mide directamente en la gama UV de 340 nm en el presente método.

Principio:

Fósforo Inorgánico + H₂SO₄ + Molibdato de Amonio → Complejo Fosfomolibdato no reducido

El fósforo inorgánico reacciona con el molibdato de amonio en un medio ácido para formar un complejo de fosfomolibdato, que absorbe luz a 340 nm. La absorbancia a esta longitud de onda es directamente proporcional a la cantidad de fósforo inorgánico presente en la muestra.

Reactivos:

Fósforo Inorgánico: Molibdato de Amonio 0.4 mM, Ácido Sulfúrico 210 mM con surfactante.

Precauciones:

1. Los reactivos son para uso de diagnóstico in Vitro.
2. No pipetear con la boca. Evitar el contacto de reactivos con la piel, ojos y ropa.

Preparación del Reactivo:

El reactivo viene en forma listo para usarse.

Almacenaje del Reactivo:

Almacenar el reactivo y el estándar en el refrigerador (2-8°C).

Deterioro del Reactivo:

No utilizar si

1. Reactivo sin suero añadido tiene una absorbancia mayor que 0.500 a 340 nm.
2. El reactivo no recupera los valores establecidos de control.

Recolección y Almacenaje de la Muestra:

1. Utilice solamente suero claro y sin hemólisis, separado de los eritrocitos tan pronto como sea posible. Los eritrocitos contienen fosfatos orgánicos que pueden hidrolizarse en reposo o se pueden escindir enzimáticamente por fosfatasa. Los fosfatos inorgánicos a continuación, pueden filtrarse a través de las paredes de las células, aumentando la concentración.
2. Una vez que el suero se ha separado, el contenido de fosfato no cambiará durante al menos una semana cuando se almacena en el refrigerador (2-8°C).⁶

Interferencias:

Para una lista completa de las sustancias que interfieren con las mediciones de fósforo inorgánico véase Young, et al.

Materiales Provistos:

1. Reactivo de Fósforo Inorgánico.
2. Estándar de Fósforo Inorgánico.

Materiales Necesarios, Pero No Provistos:

1. Dispositivos de pipeteo precisos.
2. Tubos de ensayo/estante.
3. Cronómetro.
4. Espectrofotómetro con capacidad para leer a 340 nm.

Procedimiento (Automatizado):

Consulte las instrucciones del instrumento para la aplicación apropiada.

Procedimiento (Manual):

1. Identifique los tubos blanco, estándar, control, paciente, etc.
2. Pipetear 1.0 mL de reactivo en cada tubo. Permitir volver a la temperatura ambiente (25°C).
3. Añadir 0.02 mL (20 µL) de muestra a los tubos respectivos, mezclar y dejar reposar durante cinco (5) minutos a temperatura ambiente.
4. Cero el espectrofotómetro con agua destilada a 340 nm.
5. Lea y registre absorbancia de todos los tubos.

*UN CALIBRADOR MULTIUSOS SE PUEDE UTILIZAR PARA REEMPLAZAR EL ESTÁNDAR.

Notas del Procedimiento:

1. Para espectrofotómetros que requieren un volumen total mayor para una lectura precisa, un reactivo en proporción de 3.0 ml a 0.1 ml (100 µl) de la muestra puede ser utilizado.
2. Las muestras lipémicas e ictericas requieren un blanco de suero. Para una mayor precisión un blanco de suero debe procesarse con cada muestra.
 - a. Añadir la Muestra a la solución salina.
 - b. Cero el espectrofotómetro a 340 nm con solución salina.
 - c. Leer y registrar las absorbancias de los blancos de suero.
 - d. Restar las absorbancias de la absorbancia de prueba.
3. Las muestras con valores superiores a 12.0 mg/dL deben diluirse 1:1 con solución salina, vuelva a procesar, y el resultado multiplicado por dos (2).

Cálculos:

Abs. = Absorbancia

$$\frac{\text{Abs. Desc.} - \text{Abs. Blanco reactivo}}{\text{Abs. Estándar} - \text{Abs. Blanco reactivo}} \times \text{Conc. Est.} = \text{Fosforo Inorg. (mg/dL)}$$

Ejemplo:

Abs. Del Blanco de Reactivo = 0.536

Abs. Del Desconocido = 0.918

Abs. Del Estándar = 1.012

Conc. Del Estándar = 5 mg/dL

$$\frac{0.918 - 0.536}{1.012 - 0.536} \times 5 = \frac{0.382}{0.476} \times 5 = 4.0$$

Para obtener resultados en unidades SI (mmol/L), multiplicar el resultado en mg/dL por el factor 0.323.

Ejemplo: 4.0 mg/dL x 0.323 = 1.296 mmol/L

Limitaciones:

El detergente más comúnmente empleado y las toallitas desechables utilizadas en el laboratorio contienen fosfatos, y el uso de objetos de vidrio incorrectamente enjuagados puede dar lugar a valores elevados de fósforo inorgánico.

Calibración:

No es necesario determinar una curva estándar ya que la reacción es lineal en un intervalo de hasta 12 mg/dL. Sin embargo, un blanco de reactivo y estándar se debe emplear con cada conjunto de desconocido probado.

Control de Calidad:

Se recomienda que los controles se incluyan en cada serie de pruebas. Material de control disponible en el mercado con los valores establecidos de fósforo inorgánico pueden ser utilizados de forma rutinaria para el control de calidad. El valor asignado del material de control debe ser confirmado por la aplicación elegida. Si no se obtiene el rango apropiado de valores en la prueba de material de control esto puede indicar deterioro del reactivo, mal funcionamiento del instrumento o errores de procedimiento.

Valores Esperados¹⁻⁸:

Adultos: 2.5 - 4.8 mg/dL

Este rango debe servir sólo como una guía. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de valores esperados ya que existen diferencias entre instrumentos, laboratorios y poblaciones locales.

Rendimiento:

1. Linealidad: 12 mg/dL

2. Sensibilidad: Basado en un instrumento con una resolución de de A-0.001, el presente procedimiento tiene una sensibilidad de 0.01 mg/dL.

3. Comparación: Un estudio comparativo realizado entre este método y uno que se basa en la misma metodología dio coeficiente de correlación de 0.99 con una ecuación de regresión de $y = 1.01x - 0.06$.

4. Precisión:

Precisión Día-a-Día: Dos sueros de control comerciales fueron analizados por un período de treinta (30) días y la siguiente precisión día a día fue obtenida.

Día-a-Día (N = 21):

Promedio (mg/dL)	S.D.	C.V. (%)
3.2	0.2	6.6
7.2	0.3	4.1

Precisión Entre Corridas: Dos sueros de control comerciales se analizaron veinte (20) veces y la siguiente precisión entre corridas se obtuvo.

Entre Corridas (N = 21):

Promedio (mg/dL)	S.D.	C.V. (%)
3.0	9.2	7.7
7.4	0.5	6.7

Referencias:

1. Tietz, N.W.: *Fundamentals of Clinical Chemistry*, W.B. Saunders Co., Philadelphia, p. 903 (1976).
2. Taussky, H.H., and Shorr, E.: *Biol. Chem.* 202 (1953).
3. Daly, J.A., Ertingshausen, G.: *Clin. Chem.* 18, 263 (1972).
4. Amador, E., Urbon, J.: *Clin. Chem.* 18, 601 (1972).
5. Henry, R.J., et al.: *Clinical Chemistry: Principles and Techniques* 409, New York, Harper and Row 122 - 143 (1964).
6. Hansk, A., Kao, S.: *Clin. Chem.* 14, 58 (1968).
7. Young, D.S.: et al., *Clin. Chem.* 21, 5 (1975).
8. Henry, R.J., et al.: *Clinical Chemistry: Principles and Techniques* 409 New York, Harper and Row 728 (1974).

