Reactivos para medir la concentración de fósforo Sólo para uso *in vitro* en el laboratorio clínico

PHOSPHORUS





FÓSFORO FOSFOMOLIBDATO/UV

FUNDAMENTO DEL MÉTODO

El fosfato inorgánico presente en la muestra reacciona con el molibdato en medio ácido, originando un complejo que se cuantifica por espectrofotometría^{1,2}.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

A. Reactivo, 3 x 40 mL, Acido sulfúrico 0.36 mol/L, cloruro de sodio 154 mmol/L.

Corrosivo (C): R35: Provoca quemaduras graves. S26: En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico. 45: En caso de accidente o malestar, acuda inmediatamente al médico (si es posible, muéstrele la etiqueta).

B. Reactivo. 1 x 50 mL. Acido sulfúrico 0,36 mol/L, cloruro de sodio 154 mmol/L, heptamolibdato de amonio 3.5 mmol/L.

Corrosivo (C): R35: Provoca quemaduras graves. S26: En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico. 45: En caso de accidente o malestar, acuda inmediatamente al médico (si es posible, muéstrele la etiqueta).

S. Patrón de Fósforo. 1 x 5 mL. Fósforo 5 mg/dL (1,61 mmol/L). Patrón primario acuoso.

CONSERVACIÓN

Conservar a 15-30°C

Los Reactivos y el Patrón son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, siempre que se conserven bien cerrados y se evite la contaminación durante su uso.

Indicaciones de deterioro

- Reactivos: Presencia de partículas, turbidez, absorbancia del blanco superior a 0,500 a 340 nm.
- Patrón: Presencia de partículas, turbidez.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Patrón (S): Está listo para su uso

Reactivo de Trabajo: Mezclar en la proporción: 7 mL Reactivo A + 3 mL Reactivo B. Homogeneizar. Estable 12 meses a 15-30°C.

EQUIPO ADICIONAL

- Analizador, espectrofotómetro o fotómetro para lecturas a 340 \pm 20 nm.

MUESTRAS

Suero, plasma heparinizado y orina, recogidos mediante procedimientos estándar...

El fósforo en suero o plasma es estable 7 días a 2-8°C.

Recoger la orina de 24 horas con 10 mL de ácido clorhídrico al 10% (v/v). Estable 10 días a $2\text{--}30^{\circ}\text{C}$. Centrifugar o filtrar y diluir 1/10 con agua destilada antes de medir.

PROCEDIMIENTO

1. Pipetear en tubos de ensayo (Nota 1):

	Blanco React.	Blanco Muestra	Muestra	Patrón
Agua destilada Muestra Patrón de Fosf. (S) Reactivo (A) React. de Trabajo	10 µL —- —- —- 1,0 mL	10 µL 1,0 mL 	 10 μL 1,0 mL	— 10 µL — 1,0 mL

- 2. Agitar bien y dejar los tubos durante 5 minutos a temperatura ambiente
- 3. Leer la absorbancia (A) de los Blancos de Muestra a 340 nm frente a agua destilada
- 4. Leer la absorbancia (A) de las Muestras y del Patrón a 340 nm frente al Blanco de Reactivos

CÁLCULOS

La concentración de fósforo en la muestra se calcula a partir de la siguiente fórmula general:

A Muestra – A Blanco Muestra X C Petrón x Factor de dilución de muestra = C Muestra

Si se utiliza para calibrar el Patrón de Fósforo suministrado (Nota 2)

	Suero y Plasma	Orina
A Muestra — A Blanco Muestra	x 5 = mg/dL	x 50 = mg/dL
A Patrón	x 1,61 = mmol/L	x 16,1 = mmol/L

VALORES DE REFERENCIA

Suero³: Adultos: 2,5-4,5 mg/dL = 0,81-1,45 mmol/L Niños: 4,0-7,0 mg/dL = 1,29-2,26 mmol/L Orina³: 0,4-1,3 g/24-h = 12,9-42 mmol/24-h

Las concentraciones en plasma son unos 0,25 mg/dL (0,08 mmol/L) mas bajas que en el suero. Estos valores se dan únicamente a título orientativo; es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso de los Sueros Control Bioquímica niveles I (cod. 18005, 18009 y 18042) y II (cod. 18007, 18010 y 18043), para verificar la funcionalidad del procedimiento de medida.

Cada laboratorio debe establecer su propio programa de Control de Calidad interno, así como procedimientos de corrección en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias aceptables.

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

- Límite de detección: 0,13 mg/dL fósforo = 0,042 mmol/L fósforo.
- Límite de linealidad: 20 mg/dL fósforo = 6,46 mmol/L fósforo. Cuando se obtengan valores superiores, diluir la muestra 1/2 con aqua destilada y repetir la medición.
- Repetibilidad (intraserie):

CV	n
1,3 % 0,7 %	20 20
	** **

Reproducibilidad (interserie):

Concentración media	CV	n
4,34 mg/dL = 1,40 mmol/L 8,20 mg/dL = 2,65 mmol/L	2,9 % 2.5 %	25 25
8,20 Hg/dL = 2,05 Hillion/L	2,3 76	20

- Sensibilidad: 48 mA·dL/mg = 149 mA·L/mmol
- Veracidad: Los resultados obtenidos con estos reactivos no muestran diferencias sistemáticas significativas al ser comparados con reactivos de referencia (Nota 2). Los detalles del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.
- Interferencias: la hemoglobina (10 g/L), la lipemia (triglicéridos 10 g/L) y la bilirrubina (20 mg/dL) no interfieren. Otros medicamentos y sustancias pueden interferir⁴.

Estos datos han sido obtenidos utilizando un analizador. Los resultados pueden variar al cambiar de instrumento o realizar el procedimiento manualmente.

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

Aproximadamente el 80% del fósforo en el organismo se encuentra integrando la sustancia inorgánica del hueso en forma de sales de fosfato de calcio. El resto está involucrado en la esterificación de los intermediarios del metabolismo de carbohidratos y como componente de fosfolípidos, fosfoproteínas, ácidos nucleicos y nucleótidos.

La hipofosfatemia puede estar causada por un desplazamiento de fosfato extracelular al espacio intracelular, por aumento de las pérdidas renales (defectos tubulares renales, hiperparatiroidismo) o de las pérdidas gastrointestinales (diarrea, vómitos) y por absorción intestinal disminuida^{3,5}.

La hiperfosfatemia generalmente es secundaria a la incapacidad renal de excretar fosfato por fallo renal o hiperparatiroidismo^{3,5}.

El diagnóstico clínico no debe realizarse teniendo en cuenta el resultado de un único ensayo, sino que debe integrar los datos clínicos y de laboratorio.

NOTAS

- Estos reactivos pueden utilizarse en la mayoría de analizadores automáticos. Solicite información a su distribuidor.
- La calibración con el patrón acuoso suministrado puede causar sesgos, especialmente en algunos analizadores. En estos casos, se recomienda calibrar usando un patrón de base sérica (Calibrador Bioquímica, cod. 18011 y 18044).

BIBLIOGRAFÍA

- Gamst O and Try K. Determination of serum-phosphate without deproteinization by ultraviolet spectrophotometry of the phosphomolybdic acid complex. Scand J Clin Lab Invest 1980; 40: 483-486.
- Muñoz MA, Balón M and Fernández C. Direct determination of inorganic phosphorus in serum with a single reagent. Clin Chem 1983; 29: 372-374.
- 3. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
- 4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.