## **FOSFORO INORGANICO**

#### FOSFORO INORGANICO

## **USO:**

Para la determinación cuantitativa de Fósforo Inorgánico en suero.

## **HISTORIA DEL METODO:**

La medición de fósforo inorgánico en suero va usualmente ligada a la formación de un complejo fosfomobilbdato y una reducción de un complejo de molibdeno color azul. Hay métodos de acuerdo a los agentes reductores: Cloruro de estaño, Felinidrazina, aminonaftasulfonico acido, acido ascórbico, P-Metilaminofenolsulfato, N-fenil-P-Fefenilendiamina y sulfato ferroso. Estos métodos la estabilidad en del desproteinización y complejidad del desempeño. La adición de un sufractante elimina la necesidad de preparar un filtrado libre de proteínas, acelera la producción de color y simplifica el procedimiento.

Muchos de los componentes de estos reactivos eran inestables y tenian que almacenarse por separado. La cuantificación del fosfomolibdato no reducido fué reportado por Simonien en 1946. Doly y Ertinghausen adoptaron la técnica para la determinación de fósforo inorganico.

En 1972 Amador y Urban modificaron el procedimiento mencionado utilizando un solo reactivo para el rango U.V.

#### PRINCIPIO:

 $Fos foro\ Inorg\'anico + H_2SO_4 + Fos fomolib da to\ de\ amonio \to compuesto$   $de\ fos fomolib da to\ oxida do$ 

El Fósforo Inorgánico reacciona con el molibdato de amonio en un medio acido para formar un complejo de fosfomolibdato que absorbe luz a 340 nm o la absorbancia es directamente proporcional a la cantidad de Fósforo Inorgánico.

## **REACTIVOS:**

Molibdato de amonio 0.48 nM, Acido Sulfúrico 220 mM con surfactante.

#### **PREACUCIONES:**

- 1. Este reactivo es para diagnóstico "In Vitro" solamente.
- 2. Este reactivo es ácido y es cáustico, Evite contacto con la piel, lave con agua abundante, no pipetee con la boca.

#### PREPARACION DEL REACTIVO:

Viene listo para usarse.

## **ALMACENAMIENTO:**

Almacene el reactivo y estandard a 2-8°C.

## **DETERIORO DEL REACTIVO: NO USE SI:**

- 1. El reactivo leido contra agua tiene una absorbancia mayor que 0.500 a 340 nm.
- 2. El reactivo no obtiene los valores de control.

# COLECCION Y ALMACEN DEL ESPECIMEN:

- 1. Use suero no hemolizado.
- 2. No utilice plasma, ya que los anticoagulantes producen valores bajos.
- 3. Las muestras hemolizadas producen valores elevados.
- 4. Separe el suero del coágulo rapidamente.
- 5. El Fósforo Inorgánico es estable por una semana refrigerado, y por tres meses congelado.

#### **INTERFERENCIAS:**

Vea Young para obtener una lista de substancias que interfieren con la determinación de fósforo Inorgánico.

#### **MATERIALES:**

Reactivo de Fósforo Inorgánico.

## **MATERIALES REQUERIDOS:**

- 1. Instrumentos de pipeteo.
- 2. Tubos de ensayo o gradilla.
- 3. Reloj
- 4. Espectrofotómetro a 340nm.

#### PROCEDIMIENTO AUTOMATICO:

Vea instrucciones del instrumento.

#### PROCEDIMIENTO MANUAL:

- 1. Etiquete los tubos blanco, estandard, control, paciente, etc.
- 2. Transfiera 1.0 ml. de reactivo en cada tubo.
- 3. Agregue 0.02 ml. (20 ul) de muestra a los tubos respectivos, mezcle y dejelos reposar 5 minutos a temperatura ambiente.
- 4. Ponga en cero el espectrofotómetro a 340 nm con solución salina.
- 5. Lea las absorbancias de todos los tubos.
- 6. Para determinar los resultados vea cálculos.

## **NOTAS:**

- 1. Si el espectrofotómetros requiere mayor volumen: 3.0 ml. reactivo a 0.100 ml. (100ul) de muestra es recomendado.
- 2. Las muestras ictéricas y lipémicas requieren un blanco de suero, corra un blanco de suero con cada muestra.
- 3. Agregue 0.02 ml (20 ul) de muestra a 1.0 ml. de solución salina.
- 4. Ponga en cero el espectrofotómetro a 340 nm. con solución salina.
- 5. Lea las absorbancias de blancos en suero.

- Reste esas absorbancias de las absorbancias de muestras.
- 7. Las muestras con valores mayores 12.0 mg dl deben ser diluidas 1:1 con salina, corra de nuevo y multiplique por 2.

#### **CALIBRACION:**

Use un estandard de suero (5 mg/dl) o un calibrador.)

#### **CONTROL DE CALIDAD:**

Se debe monitorear la reacción con el uso del suero de control normal y anormal con concentraciones de Fósforo Inorgánico conocidas.

## **CALCULOS:**

ABS = Absorbancia

 $\underline{Abs.desc.} \times conoc.del = Fofosforo\ Inorganico(mg/dl)$ 

Abs. Estd. Estandard

## **UNIDADES SI:**

Para obtener los resultados en (mmol/L), multiplique el resultado de mg/dl por el factor 0.323

Ejemplo: 3.4mg/dl x 0.323=1.09 mmol/L.

#### LIMITANTES:

No utilice detergentes con fosfato para lavar los instrumentos a utilizar en la prueba.

#### **VALORES ESPERADOS:**

Adultos 2.5-4.8 mg/dl

Niños 4.0-7.0 mg/dl

Los valores disminuyen durante el periodo menstrual y después de las comidas. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus valores normales.

#### **DESEMPEÑO:**

- 1. Linearidad 12 mg/dl.
- Comparación:Un estudio realizado entre este metodo y otro basado en la misma metodología dio un coeficiente de correlación de 0.999 con una ecuación de regresión de y=1.02x-0.06 (N=26)
- 3. Precisión:

## **Entre pruebas**

Conc.	D.E.	C.V.%
3.5	0.05	1.4
7.8	0.07	0.9

## Prueba a prueba

Conc.	D.E.	C.V.%
3.5	0.08	2.3
77	0.21	2.7

#### **REFERENCIAS:**

- 1. Osdmond, M.F., Full, Soc. Chim 47:745 (1887)
- 2. Taylor, A.E., Miller, C.W. J. Biol, Chem 66:275 (1914)
- 3. Fiske, C.H., Subbarow, Y. J. Biol. Chem 66:275 (1925)
- 4. Lowry, O.H., Lopez, J. A. Biol, Chem. 162:42 (1946)

#### **REV 2/90**

