

ESTUDIO COMPARATIVO DE ALGUNOS METODOS DE DOSIFICACION DEL FOSFORO INORGANICO DEL SUERO

Dr. LUIS ESCALANTE

Hospital Regional Universitario. Ambato

La valoración de la concentración del fósforo inorgánico del suero tiene importancia en el estudio de algunos tipos de enfermedades, sobre todo metabólicas y endócrinas.

El fosfato inorgánico del plasma parece ser ortofosfato con una relación $\text{HPO}_4^{2-} / \text{H}_2\text{PO}_4^-$ de 4:1 aproximadamente. Todo el fosfato inorgánico del plasma es filtrable y difusible. Hay también en el plasma pequeñas cantidades de algunos ésteres de fosfato. La concentración normal del fosfato inorgánico del suero varía entre 1.6 a 2.7 miliequivalentes por litro en los adultos y entre 2.3 a 3.5 miliequivalentes por litro en los niños. Estas cifras son variables según algunos autores. El principal depósito del fosfato es el esqueleto, la principal vía de absorción es el tubo digestivo y la vía principal de excreción, el riñón y secundariamente el tubo digestivo.

El fósforo inorgánico tiene importantes funciones relacionadas con el metabolismo graso y de los carbohidratos,

con el equilibrio ácido-básico; junto con el calcio, interviene en el metabolismo óseo. Además forma parte de importantes compuestos como los ácidos nucleicos, fosfolípidos, etc.

Las alteraciones de la concentración del fósforo están determinadas por enfermedades óseas y carenciales (raquitismo, osteomalacia, osteoporosis, tumores óseos), enfermedades renales (insuficiencia renal crónica), de las paratiroides, y del metabolismo hidrocarbonado (diabetes), así como de algunos otros cuadros (sarcoidosis, sprue, etc.)

Los métodos para la determinación del fósforo se basan en la formación de un complejo de fosfomolibdato y la subsiguiente reducción de éste y formación de una solución coloidal de azul de molibdeno.

Como agente reductor se puede utilizar cloruro estannoso (Kuttner-Jächterstein), ácido 1-amino-2-naftol 4-sulfónico. (Fiske-SubbRow), sulfato de monometil p-aminofenol (Gomori, Desal-Manhourri). Pueden usarse otros re-

ductores, como el sulfato de hidrazina o la hidroquinona.

El objeto del presente trabajo fue el de realizar una evaluación de tres métodos de uso rutinario en laboratorios clínicos con equipo estándar, para la determinación del fósforo inorgánico del suero.

MATERIALES Y METODOS

Se eligieron los métodos de Fiske-SubbaRow¹, Gomori², y Delsal-Manhour³. El procedimiento de cada uno de ellos se llevó a cabo de acuerdo con las referencias indicadas. Se realizaron algunos estudios sobre el método de Kuttner-Lichtenstein, pero a pesar de su gran sensibilidad, que lo hace apropiado para su utilización en micrométodos, los resultados obtenidos fueron muy variables y no bien reproducibles, por lo cual no se realizó un estudio de este método.

Las determinaciones se llevaron a cabo en sueros de pacientes recibidos en el laboratorio para exámenes químicos de rutina, separando los sueros del coágulo, lo más pronto posible. Como se trataba de hacer un estudio de metodología, no se hizo división de pacientes de acuerdo a patología o sexo. Únicamente las muestras de niños en número de ocho, no se les ha incluido en el estudio estadístico debido a la mayor variación de la concentración del fósforo en esta edad.

Cada grupo de determinaciones se las hizo junto con un estándar equivalente a una concentración de 5.82 mEq

lit. (10 mg. %), y las concentraciones se las obtuvo por cálculo referido a este estándar. Durante el período de estudio, se realizaron tres calibraciones de cada uno de los métodos para comprobar su linealidad. Durante este mismo período se realizaron 10 determinaciones en un suero de control comercial (Labtrol DADE, Lote LT28 YN). Se realizó además un estudio sobre la influencia de la centrifugación y filtrado sobre los valores obtenidos con cada método. Esto se llevó a cabo con 10 muestras aparte de las del trabajo general.

RESULTADOS

Los valores encontrados para las muestras de suero de los pacientes, según los 3 métodos de dosificación se resumen en la tabla I. El intervalo de clase en el que se encuentra la mayor frecuencia de casos corresponde al de 2 a 2.5 mEq/l.

La amplitud de variación de los valores obtenidos con los 3 métodos en estudio es visiblemente diferente entre los adultos y los niños. En los primeros en forma general, oscila entre 1.1 y 7 mEq/l, Fig. 1.

Se observó además un apreciable grado de correlación entre los valores obtenidos por los 3 diferentes métodos, tomando como método de comparación al de Fiske-SubbaRow, tabla II. El índice de correlación entre este método y el de Gomori es de 0.815, Fig. 2. Con el método de Delsal-Manhour es de 0.875 Fig. 3.

Se efectuaron las curvas de calibración de los 3 métodos, observándose una buena linealidad en cada una de ellas hasta la concentración de 8.5 mEq/l. Fig. 4.

Los valores de transmisión expresados en por ciento, obtenidos con los estándares de comparación durante el desarrollo de este trabajo y para cada uno de los métodos, no presenta variaciones significativas. Fig. 5.

La amplitud de variación de los valores obtenidos con los métodos de Fiske-SubbaRow y Gomori utilizando centrifugación y filtración por papel

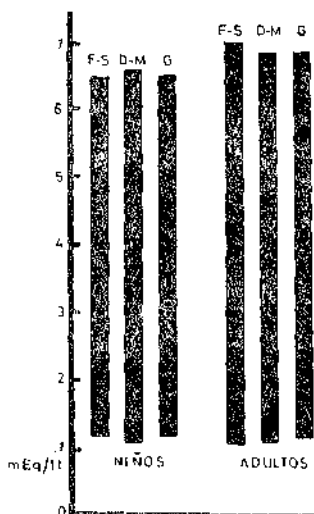


FIGURA 5.—Amplitud de la variación de los valores obtenidos con los métodos usados.

Whatman Nº 1 o papel filtro normal no presenta variaciones significativas. Fig. 6.

DISCUSION

Del estudio comparativo entre estos tres métodos, se pueden sacar las siguientes conclusiones:

1— Los tres métodos parecen ser igualmente confiables. Los valores obtenidos con el suero de control (Lab-trol), nos permiten sacar esta conclusión.

2— Los métodos de Gomori y Delsal-Manhourl dan en promedio valores algo más altos que los obtenidos con el método de Fiske-SubbaRow.

3— Los tres métodos presentan una buena linealidad hasta un valor de 8.5 mEq l.

4— Hay una variación diaria de la densidad óptica del estándar, por lo cual es recomendable usar la curva de calibración para comprobar la linealidad del método, y ver hasta que concentración obedece a la ley de Beer-Lambert. Junto con cada grupo de sueros es necesario hacer la determinación del estándar y obtener los valores de los sueros problema, por cálculo referido a este estándar. Usando únicamente la curva de calibración se obtienen valores erróneos y no bien reproducibles.

5— El uso de la centrifugación en los métodos de Fiske-SubbaRow y Gomori tiende a dar valores algo más altos que los obtenidos con filtrado. Además hay que cuidar la calidad del pa-

pel filtro utilizado, puesto que el uso de un papel con mucha ceniza da valores más altos. Se recomienda el uso del papel Whatman N° 1 o 42. Este hecho puede explicar en parte los valores más altos obtenidos con el método de Delsal-Mardouiri, en el cual la separación de las proteínas precipitadas se hace por centrifugación.

6— El análisis de los valores estadísticos hallados, nos revela que las diferencias entre el método de Fiske-Sub-

barow y los de Gomori y Delsal-Mardouiri, no son significativas.

7— Los valores hallados no representan indudablemente "valores normales" puesto que fueron tomados de una población hospitalaria en la que caben esperar mayores oscilaciones en los valores. Gomori, en una población hospitalaria, encontró como valor promedio 2.05 mEq l. con una oscilación entre 1.31 y 2.91 mEq l. (2). En nuestra serie hay algunos valores francamente patológicos de pacientes con afección

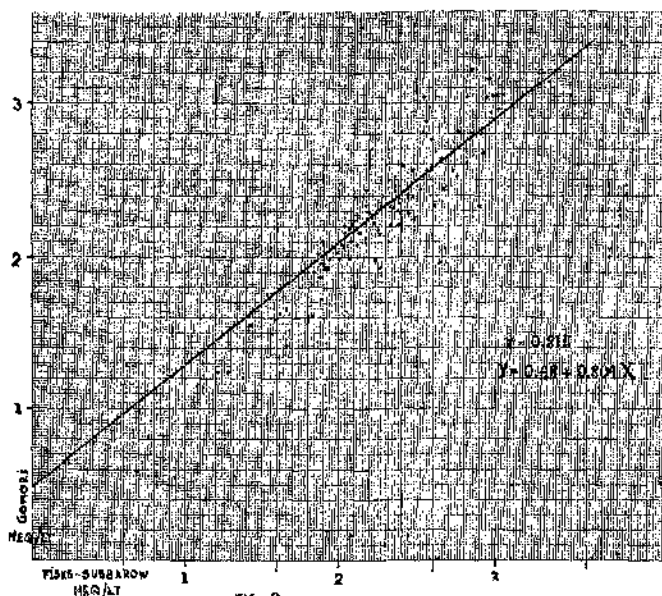


FIG. 2

FIGURA 2.—Diagrama de dispersión del método de Gomori comparado con el de Fiske-Subbarow.

cinnes diversas. Como se trataba de realizar un estudio comparativo de metodología, no se hizo una selección de casos.

Los valores de fósforo inorgánico del suero en niños, presentan también algunos valores patológicos. Los casos pediátricos no se los ha incluido en la estadística general.

8— La elección del método a emplearse en un laboratorio dado dependerá de muchos factores. Sin embargo,

los métodos de Gomori y Delsal-Manhourri presentan algunas ventajas sobre el de Fiske-Subbarow en lo que se refiere al menor volumen de filtrado utilizado y a la estabilidad y facilidad de preparación de los reactivos usados.

El método de Delsal-Manhourri presenta sobre los otros, la ventaja de menor volumen de suero necesario, estabilidad de los reactivos, buena sensibilidad y rapidez de ejecución. En el momento actual en que se recurre cada

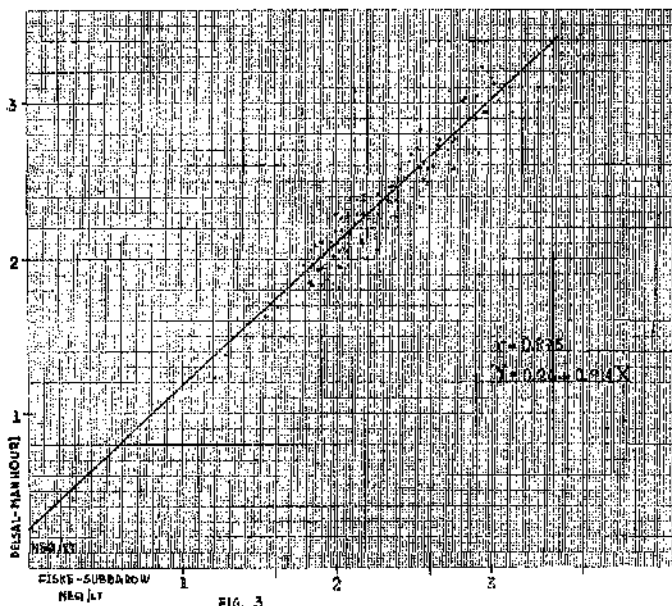


FIG. 3.—Diagrama de dispersión del método del Delsal-Manhourri comparado con el de Fiske-Subbarow.

vez más a los micrométodos, este método presenta numerosas ventajas y puede ser adoptado como procedimiento de rutina para la determinación del fósforo inorgánico del suero.

9.— Los métodos presentes, pueden adaptarse fácilmente a la determinación del fósforo lipídico del suero y a la determinación de las fosfatasas por el método de Bodansky. Además pue-

den usarse para determinar el fósforo urinario en algunos estudios de balance metabólico o endocrinológico (tasa de reabsorción tubular de fosfato).

RESUMEN

Con muestras de sueros de 100 pacientes, que adolecían de diversas afecciones, se efectuó un estudio de eva-

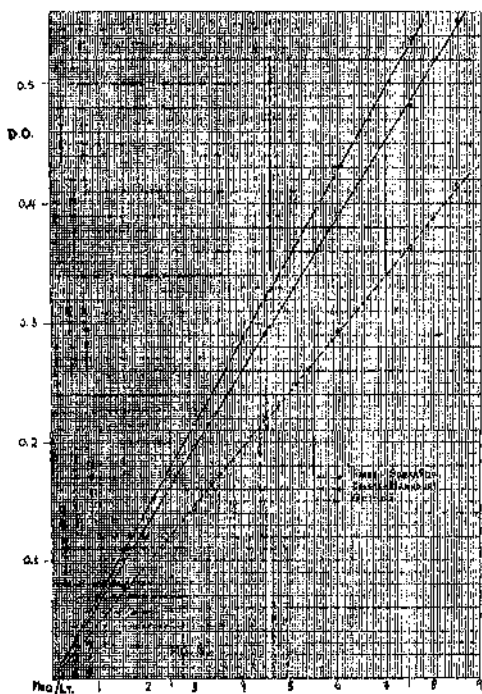


FIGURA 4.—Curvas de calibración correspondientes a cada uno los 3 métodos en estudio.

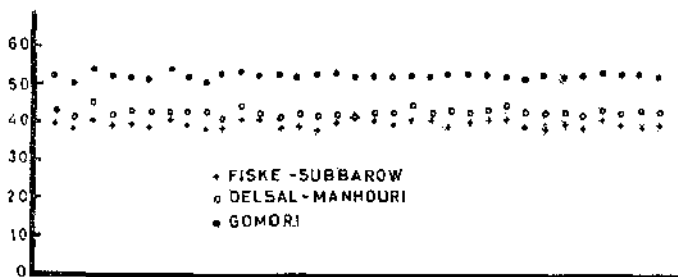


FIGURA 5.—Variación del porcentaje de transmisión del estándar durante el estudio.

luación de los métodos de Fiske-Subbarow, Gomori y Delsal-Manhourri, para la determinación del fósforo inorgánico.

Los 3 métodos resultaron igualmente confiables. Los valores promedio obtenidos fueron: 2.39, 2.40 y 2.45 mEq/l, respectivamente y sus diferencias, en cuanto a correlación, no son significativas.

Se encontró además que cada determinación debe hacerse comparativamente y referida a un estándar ya que si se utiliza solamente la curva de calibración correspondiente, se obtienen valores erróneos y no reproducibles.

El uso de la centrifugación en los métodos de Fiske-Subbarow y Gomori, tiende a dar valores algo más altos que los obtenidos por filtración. Los métodos de Gomori y Delsal-Manhourri presentan algunas ventajas en lo que se refiere al menor volumen del filtra-

do, a la estabilidad y a la facilidad de su ejecución. El método de Delsal-Manhourri requiere menor volumen de sue-

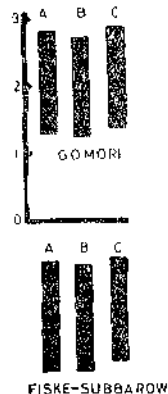


FIGURA 6.—Amplitud de la variación de los valores obtenidos con los métodos de Gomori y Fiske-Subbarow. A—Centrifugación B—Filtración por papel Whatman Nº 1 C—Filtración por papel filtro común.

TABLE I
DISTRIBUCION DE LOS VALORES DE FOSFORO INORGANICO
OBSERVADOS EN 100 PACIENTES, SEGUN LOS METODOS DE
FISKE-SUBBAROW, GOMORI Y DELSAL-MANHOURI

Intervalo mEq/l.	Fiske-SubbaRow	Gomori	Delsal-Manhourri
1.00 - 1.5	4	3	4
1.51 - 2.0	21	20	13
2.01 - 2.5	39	42	44
2.51 - 3.0	27	21	24
3.01 - 3.5	5	11	10
3.51 - 4.0	3	2	3
Sobre 4	1	1	2

ro, lo que permite considerarlo como un verdadero micrométodo que puede ser adoptado en forma rutinaria para la determinación del fósforo inorgánico en el suero.

SUMMARY

We studied 100 blood samples from patients with several diseases, in order to evaluate comparatively by three methods (Fiske-SubbaRow, Gomori and Delsal-Manhourri) used in phosphorus determination.

All three methods are reliable; we had the following average values: 2.39, 2.40, and 2.45 mEq l. respectively, and their differences so far as correlation were not significative.

Each determination must be done comparatively taking a standard as reference; otherwise, if we use only calibration curves, the values are mistaken.

Centrifugation in Fiske-SubbaRow and Gomori methods gives somewhat higher values than those gotten through filtration. Gomori and Delsal-Manhourri methods have several advantages as far as less volume of filtration, stability and procedure. Delsal-Manhourri method needs less volume of serum; in other words it is a micromethod which can be used as routine procedure in determination of serum inorganic phosphorus.

TABLA II
VALORES COMPARATIVOS DE LOS DOS METODOS EN RELACION
CON EL DE FISKE-SUBBAROW (Valores en mEq/l.)

	Fiske-Subbattow	Oelsal-Manshour	Gomori
Promedio	2.39	2.45	2.40
Variansa	0.45	0.50	0.44
Desviación estandar	0.67	0.70	0.66
Coefficiente de correlación		0.875	0.815
Línea de regresión	Y - 26 = 0.914 X		Y = 0.48 + 0.804 X

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- NAVARRO BLAYA, S.: Técnicas isotópicas aplicadas a la Bioquímica Clínica. Ed. Martínez de Murguía, Madrid, 1963.
- 2- REINER, M.: Standard Methods of Clinical Chemistry. Vol. I. Academic Press.
- 3 KING, R. y WOOTON, I.: Micro-Analyses in Medical Biochemistry, 4th. Ed. Grune & Stratton, New York, 1964.
- 4- NATELSON, S.: Microtechniques of Clinical Chemistry. 2th. Ed., Charles Thomas, Publ. 1963.
- 5- BAGANSKY, E., FOA, P. y ZAK, B.: Microdetermination of inorganic phosphate, phospholipids and total phosphorus in biologic materials. Clin. Chem., Vol. 13, Nº 4, April 1967.