

«ПОГОДЖЕНО»

Перший заступник голови Державної
служби України з лікарських засобів

09 листопада 2012 р.

І.Б. Демченко

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар клінічної лікарні „Феофанія”
Державного управління справами

30 жовтня 2012 р.

І.П. Семенів

ТУ У 24.4-24607793-019-2003

ІНСТРУКЦІЯ ДО НАБОРУ РЕАКТИВІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ НЕОРГАНІЧНОГО ФОСФОРУ У БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ (БЕЗ ДЕПРОТЕІНУВАННЯ) (UV-ВАРІАНТ)

IVD

ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір призначений для визначення концентрації неорганічного фосфору (як фосфату) методом без депротеїнування (ультрафіолетовий варіант) у сироватці крові і сечі людини в клініко-діагностичних, біохімічних лабораторіях, науково-дослідницькій практиці.

Набір розрахований (з **урахуванням холостих та калібрувальних проб**) на відповідну кількість визначень неорганічного фосфору (Див. **Примітку 3**).

REF	мікро	напівмікро	макро	REF	мікро	напівмікро	макро
<u>HP023.02</u>	100	50	25	<u>HP023.04</u>	1000	500	250
<u>HP023.03</u>	250	125	60	<u>HP023.05</u>	500	250	125

Діапазон визначаємих концентрацій - від 0,05 ммоль/л до 6,46 ммоль/л (від 0,15 мг% до 20 мг%).

Коефіцієнт варіації в серії - не більше 5 %.

Чутливість ⁹ на 0,001 од. оптичної щільності – не більше 0,0065 ммоль/л (340 нм).

Зберігання набору - при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С.

Гарантійний строк придатності набору - 12 місяців від дня виготовлення.

Набір призначений для застосування *in vitro* тільки кваліфікованим лабораторним персоналом.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Неорганічний фосфат утворює із молібдатом амонію в кислому середовищі фосфомолібдатний комплекс. Оптична щільність комплексу, що утворився, прямо пропорційна концентрації неорганічного фосфору в пробі і вимірюється при довжині хвилі **340 нм**.

СКЛАД НАБОРУ

- | | |
|---|---|
| 1. Молібденовий реагент | <u>HP023.02</u> - 2 флакони по (50 ± 2) мл; |
| - молібдат амонію (0,300 ± 0,015) ммоль/л | <u>HP023.03</u> - 2 флакони по (125 ± 2) мл або |
| - детергенти, активатори | 1 флакон з (250 ± 5) мл; |
| | <u>HP023.05</u> - 2 флакони по (250 ± 5) мл або |
| | 5 флаконів по (100 ± 2) мл; |
| | <u>HP023.04</u> - 1 пляшка з (1000 ± 20) мл. |
| 2. Калібрувальний розчин фосфору | <u>HP023.02</u> , <u>HP023.03</u> , <u>HP023.05</u> |
| ((1,615 ± 0,080) ммоль/л | - 1 флакон з (5,0 ± 0,5) мл. |
| або (5,00 ± 0,25) мкг %) | <u>HP023.04</u> - 2 флакони по (5,0 ± 0,5) мл. |

ЗРАЗОК**Сироватка, гепаринізована плазма, сеча, СМР.**

Сироватка, натщесерце. Не допускати гемолізу і тривалого венозного стазу. Відокремити від еритроцитів як найшвидше (протягом 1 години після збору зразка). Зразок стабільний при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С на протязі 7 діб, у замороженому вигляді протягом декількох місяців. Жовтяничну сироватку можна використати до концентрації білірубіна у ній нижче 86 мкмоль/л.

Сеча, за добу. Збирати у промитий кислотою посуд без детергентів. Підкислити 10% соляною кислотою після закінчення збору сечі до pH<3. Зразок стабільний при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С до 10 діб. Перед аналізом сечу необхідно розвести в 20 разів фізіологічним розчином. При розрахунках результат аналізу помножити на 20.

СМР – зберігати як сироватку.

ОБЛАДНАННЯ

1. Фотометричне обладнання, що забезпечує вимір оптичної щільності розчинів при довжині хвилі **340** нм у діапазоні (0-1,0) од. опт. щільності та довжині оптичного шляху 10 мм (**Можливо використання автоматичного аналізатора. Інструкція для автоматичного аналізатора висилається за замовленням споживача**).
2. Пробірки місткістю 10 мл (згідно з чинними нормативними документами).
3. Піпетки місткістю 1; 0.1 та 5 мл (ДСТУ EN ISO 835:2018).

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

Всі розчини готові до застосування і придатні до строку зазначеного на упаковці.

Негайно закривати флакони після закінчення роботи, щоб уникнути випарювання реактиву або його контамінації. Максимальна екстинція Молибденового реагенту **проти води при 340 нм – 0,54** од. опт. щільності.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Аналіз проводиться у відповідності зі схемою, наведеною в таблиці 1

Таблиця 1

Відміряти в пробірку, мл	Дослідна проба			Калібрувальна проба			Холоста проба		
	Макро	Напів-мікро	Мікро	Макро	Напів-мікро	Мікро	Макро	Напів-мікро	Мікро
Молибденовий реагент	4,00	2,00	1,00	4,00	2,00	1,00	4,00	2,00	1,00
Аналізуємий розчин	0,04	0,02	0,01	-	-	-	-	-	-
Калібрувальний розчин фосфору	-	-	-	0,04	0,02	0,01	-	-	-
Вода дистильована	-	-	-	-	-	-	0,04	0,02	0,01
Перемішують, витримують 5-6 хв при кімнатній температурі (від плюс 18 °С до плюс 25 °С) і вимірюють оптичну щільність дослідної проби ($E_{\text{досл}}$) і калібрувальної проби ($E_{\text{кал}}$) проти холостої проби (забарвлення стійке протягом 60 хв). Фотометрування - див. розділ «Обладнання».									

ВИЗНАЧЕННЯ ФОСФОРУ В ЛІПЕМІЧНИХ СИРОВАТКАХ

У випадку ліпемічних сироваток необхідно виміряти значення холостої проби сироватки $E_{\text{ліп}}$. Змішують 0,01 мл проби і 1 мл 0,9% фізіологічного розчину та вимірюють абсорбцію холостої проби сироватки $E_{\text{ліп}}$. Розрахунок – за формулою (2).

РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Розрахунок концентрації фосфору проводять за формулами (1) та (2):

$$C = \frac{E_{\text{досл.}}}{E_{\text{кал.}}} \times 1,615\{(5)\}, \text{ де} \quad (1)$$

$$C = \frac{(E_{\text{досл.}} - E_{\text{ліп}})}{E_{\text{кал.}}} \times 1,615\{(5)\}, \text{ де} \quad (2)$$

1,615 (5) – концентрація фосфору в калібрувальному розчині, ммоль/л (мг%);

$E_{\text{досл}}$ - оптична щільність дослідної проби, од. опт. щільності;

$E_{\text{кал}}$ - оптична щільність калібрувальної проби, од. опт. щільності;

$E_{\text{ліп}}$ - оптична щільність холостої проби ліпемічної сироватки, од. опт. щільності;

C – концентрація фосфору в дослідній пробі, ммоль/л (мг%).

Отриману концентрацію фосфору в сечі необхідно помножити на коефіцієнт розведення - 20.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для контролю ходу реакції та процедури вимірювання рекомендується використовувати контрольні сироватки із значеннями концентрації, визначеними даним методом. Наприклад: Diacon N, Diacon P (Австрія), TruLab N, TruLab P (Німеччина), "ФілоНорм" або „ФілоПат” (Україна).

Виробник залишає за собою право вносити зміни без попереднього повідомлення. Дата останньої перевірки **26.02.2024**

Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте обладнання, реактиви та можливі технічні проблеми.

Кожна лабораторія повинна встановити власну внутрішню систему контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

НОРМАЛЬНІ ВЕЛИЧИНИ

Сироватка ¹

Дорослі 12-60 років:	0,87 – 1,45 ммоль/л	(2,7 – 4,5 мг%)
Чоловіки старше 60 років:	0,74 – 1,20 ммоль/л	(2,3 – 3,7 мг%)
Жінки старше 60 років:	0,90 – 1,32 ммоль/л	(2,8 – 4,1 мг%)
Немовлята:	1,45 – 2,91 ммоль/л	(4,5 – 9,0 мг%)
Діти, 10 діб-24 міс.:	1,45 – 2,16 ммоль/л	(4,5 – 6,7 мг%)
Діти, 24 міс. – 12 років:	1,45 – 1,78 ммоль/л	(4,5 – 5,5 мг%)

Сеча ¹

Дорослі:	29 – 48 ммоль/сут	(0,9 – 1,5 г/сут)
----------	-------------------	-------------------

СМР ²

Дорослі:	0,39 – 0,68 ммоль/л	(1,2 – 2,1 мг%)
----------	---------------------	-----------------

Дані величини орієнтовні, відповідно до правил GLP (Належної Лабораторної Практики) рекомендується визначення власних нормальних величин в кожній лабораторії, характерних для обстежуваного контингенту.

ПАРАМЕТРИ ПРОГРАМУВАННЯ

Найменування набору реактивів	Фосфор УФ
Тип аналізатора (напівавтомат/автомат)	будь-який
Метод виміру	КТ
Зміна оптичної щільності	Збільшується
Довжина хвилі, нм	340
Вимір проти	Контрольної проби
Температура реакції, °С	18-25
Чинник	-
Концентрація стандарту	1,615
Співвідношення реагент/проба (мкл/мкл)	1000 : 10
Кількість вимірів, не менше	1
Час передінкубації, с	-
Час реакції, с	300
Одиниці виміру	ммоль/л
Верхня межа абсорбції контрольної проби, А	0,8
Нижня межа абсорбції контрольної проби, А	0,00
Максимально допустиме ΔЕ/хв, А	-
Межі лінійності	0,1-6,46
Максимум норми	1,45
Мінімум норми	0,87
Підтвердження лінійності (так/ні)	ні

ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Близько 85 % фосфору міститься в організмі у вигляді солей фосфату кальцію в неорганічній частині кістки.

Решта частини фосфору включена в етерифікацію проміжних продуктів обміну цукрів, а також входить до складу фосфоліпідів, фосфопротеїнів, нуклеїнових кислот і нуклеотидів.

Концентрація фосфору в сироватці характеризується циркадним ритмом (найвищі значення пізно вранці, найнижчі ввечері) і схильна до швидких змін, вторинних стосовно таких факторів, як дієта (вуглеводна), присутність фосфатзв'язуючих антацидів і зміна рівнів СТГ, інсуліну і функції нирок. Існують сезонні коливання з максимальним рівнем у травні й червні (найнижчі рівні взимку).

Гіпофосфатемія може бути викликана переходом фосфору із позаклітинної рідини у внутрішньоклітинну, підвищеною екскрецією крізь нирки (дефекти каналців нирок,

гіперпаратиреоз) або втратою через ЖКТ (пронос, блювота), і зниженим всмоктуванням в кишечнику ^{7,8}.

Гіперфосфатемія зазвичай виникає в результаті ниркової недостатності або гіпопаратиреозу ^{7,8}.

Клінічний діагноз повинен встановлюватися на основі інтеграції клінічних і лабораторних даних.

ПРИМІТКИ ¹

1. Сироватка або гепаринізована плазма повинні бути відокремлені від еритроцитів, як тільки зразок крові зібраний; у противному випадку фосфатаза і неорганічні фосфати, що присутні в еритроцитах, можуть викликати помилково-високі значення рівня фосфору.
2. Основним джерелом помилок є забруднення посуду і кювет. Рекомендується використовувати одноразовий пластиковий посуд. Кювети і посуд багаторазового застосування, що використовуються при аналізі, повинні бути бездоганно чистими, призначеними винятково для аналізу фосфору. Мити використовуємий посуд рекомендується хромовою сумішшю або 10% розчином азотної кислоти (залишати в них посуд на ніч), потім ретельно промити дистильованою водою і нарешті деіонізованою водою (або бідистилятом) та висушити.
3. **Розраховано при витраті розчинів реагентів 1,0 мл (мікро-), 2,0 мл (напівмікро-), 4,0 мл (макро-). Витрату реактивів можна масштабувати, відповідно до аспіраційного об'єму кювети аналізатора, виходячи з постійного співвідношення:**

Молібденовий реагент : Аналізуємий розчин = 100 : 1

ІНТЕРФЕРЕНЦІЯ

На хід визначення також можуть робити вплив інші ліки і речовини ⁶.

УТИЛІЗАЦІЯ

Всі зразки для аналізу вважають за матеріал, який може бути інфікований, і разом з можливими залишками реактивів підлягає знищенню відповідно до затверджених внутрішньолікарняних правил.

Паперову упаковку здайте в макулатуру, виполоскану тару - в сортоване сміття.

ЗАСТЕРЕЖНІ ЗАХОДИ

1. При роботі використовувати гумові рукавички, заборонено їсти, пити, курити.
2. Молібденовий реагент включає сірчану кислоту (їдка речовина), Калібрувальний розчин фосфору - азид натрію (отруйна речовина).

ЛІТЕРАТУРА

1. Энциклопедия клинических лабораторных тестов под ред. Н.У.Тица, перевод под ред. В.В.Меньшикова, Москва, "Лабинформ", стр. 495-496 (1997).
2. Нормальні показники лабораторних досліджень, під ред. Є.Л.Гофмана, м. Львів, Центральне транспортне клінічне об'єднання, стор. 50 (1998).
3. Daly, J.A., Erthingshausen, G.: Clin. Chtm., 18,(1972).
4. Henry R.J., Clinical Chemistry, Principles and Techniques, 2nd Edition, Harper and Row, 1974, p.525
5. Gamst, O. and Try, K.: Scand. J. Clin. Lab.Invest. 40,(1980), p.483-486.
6. Young DS. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.
7. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.
8. Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACC Press, 1999.
9. IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997).



ТОВ НВП «Філіцит-Діагностика»,
Україна, 49051 м. Дніпро, вул. Каштанова, 32
Тел./факс: (056) 747-47-76, 747-45-34
Тел.: (093) 573-75-35, (067) 535-15-73, (095) 168-36-54
E-mail: felicit@ukr.net <http://www.felicit.com.ua>