

«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

Код за НК 024:2023 – **59123**

REF № **HP023.01**

ТУ У 24.4-24607793-019-2003

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

IVD

ПРИЗНАЧЕННЯ

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

Набір розрахований на **200 мікро-, 100 напівмікро-, 50 макровизначень** неорганічного фосфору (з урахуванням холостих та калібрувальних проб) (Див. **Примітку 3**).

Діапазон визначаємих концентрацій - від 0,05 ммоль/л до 5,0 ммоль/л (від 0,15 мг% до 15 мг%).

Коефіцієнт варіації у серії - не більше 5 %.

Чутливість ⁸ на 0,001 од. оптичної щільності – не більше 0,005 ммоль/л (620 нм).

Зберігання набору - при температурі від плюс 2 °С до плюс 16 °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 молібденовою кислотою, у сильно кислому середовищі, фосфомолібденову кислоту, яка відновлюється в присутності заліза (II) у молібденову синь. Білки, які осаджуються індикаторним реагентом, розчиняються при додаванні стабілізатора - триетаноламіну. Оптична щільність реакційного розчину пропорційна концентрації неорганічного фосфору в пробі.

СКЛАД НАБОРУ

- Індикаторний реагент - 1 флакон з (100 ± 4) мл;
 - молібдат амонію (40 ± 2) ммоль/л;
 - стабілізатори, активатори.
- Розчин стабілізатора - 1 флакон з (100 ± 4) мл;
 - триетаноламін (3,42 ± 0,17) моль/л.
- Калібрувальний розчин фосфору - 1 флакон з (5,0 ± 0,5) мл.
((1,615 ± 0,080) ммоль/л або (5,00 ± 0,25) мкг %)

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 виді протягом декількох місяців. Жовтяничну сироватку можна використати до концентрації білірубіна у ній нижче 86 мкмоль/л.

Сеча, за добу. Збирати в промитий кислотою посуд без детергентів. Підкислити 10% соляною кислотою після закінчення збору сечі до рН<3. Зразок стабільний при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С до 10 діб. Перед аналізом мочу необхідно розводити 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 **620 (570-660) нм** у діапазоні (0-1,0) од. опт. щільності та довжині оптичного шляху 10 мм або 5 мм.
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 терміна зазначеного на упаковці.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Аналіз проводиться у відповідності зі схемою, наведеною в таблиці 1.

Таблиця 1

Відміряти в пробірку, мл	Дослідна проба			Калібрувальна проба			Холоста проба		
	Мікро	Напів-мікро	Макро	Мікро	Напів-мікро	Макро	Мікро	Напів-мікро	Макро
Зразок	0,025	0,05	0,10	-	-	-	-	-	-
Калібрувальний розчин	-	-	-	0,025	0,05	0,10	-	-	-
Дистильована вода	-	-	-	-	-	-	0,025	0,05	0,10
Індикаторний реагент	0,500	1,00	2,00	0,500	1,00	2,00	0,500	1,00	2,00
Перемішують і витримують 15 хв при температурі від плюс 20 °С до плюс 25 °С. Осад білка, що випав, розчиняється на наступній стадії піпетування!									
Розчин стабілізатора	0,500	1,00	2,00	0,500	1,00	2,00	0,500	1,00	2,00
Вимір оптичної щільності	Е _{досл}			Е _{кал}			-		
Перемішують, витримують 5-6 хв при кімнатній температурі (від плюс 20 °С до плюс 25 °С) і вимірюють оптичну щільність дослідної проби (Е _{досл}), і калібрувальної проби (Е _{кал}) проти холостої проби (забарвлення стійке протягом 15 хв). Фотометрування - див. розділ "Обладнання".									

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%)
Новонароджені:	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/доб	(0,9 - 1,5 г/доб)
----------	-------------------	-------------------

СМР ² (спинномозкова рідина)

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.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

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

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.

РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Розрахунок концентрації фосфору проводять за формулою (1):

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

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;

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

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

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 чинників, як дієта (вуглеводна), присутність антацидів, що фосфат зв'язують, і зміна рівнів СТГ, інсуліну і функції нирок. Існують сезонні коливання з максимальним рівнем у травні і червні (найнижчі рівні зимою).

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^{5,6}.

Гіперфосфатемія зазвичай виникає в результаті ниркової недостатності або гіпарпаратиреозу^{5,6}.

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

ПРИМІТКИ¹

1. Сироватка або гепаринізована плазма повинні бути відокремлені від еритроцитів як тільки зразок крові зібраний; у протилежному 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 використовуєми 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 на загальний об'єм реакційної суміші: 4,1 мл (макро-), 2,05 мл (напівмікро-), 1,025 мл (мікро-). Витрату реактивів можна масштабувати, відповідно до аспіраційного об'єму кювети аналізатора, виходячи з постійного співвідношення:**

Індикаторний реагент : Розчин стабілізатора : *Аналізуємий розчин* = **20 : 20 : 1**

ІНТЕРФЕРЕНЦІЯ

На хід визначення також можуть впливати інші ліки і речовини ⁷.

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. Індикаторний реагент включає сірчану кислоту (їдка речовина), розчин стабілізатора включає триетаноламін (їдка 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. Velosy Gy. Szabo A. : Orvosi Hetilap 3, 112 (1971).
4. Young DS. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.
6. Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACC Press, 1999.
7. Young DS. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.
8. 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 «Філісіт-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>