

КОПИЯ ВЕРНА

Handwritten signature

УТВЕРЖДАЮ

Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере здравоохранения и
социального



Хабриев

" 15. "

2004 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения концентрации
неорганического фосфора в сыворотке крови
(ФН-ОЛЬВЕКС)

Рекомендована к утверждению экспертной комиссией по лабораторным
реагентам. (протокол № 5 от 28 июня 2004 г.)

Назначение

Набор ФН-ОЛЬВЕКС предназначен для количественного определения содержания неорганического фосфора в сыворотке крови человека спектрофотометрическим методом без депротеинизации в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 100 определений при расходе 2,0 мл рабочего реагента на один анализ.

Инструкция составлена директором по науке ООО «Ольвекс Диагностикум», к.б.н. З.А.Тупиковой и заведующим кафедрой клинической лабораторной диагностики СПб МАПО, д.м.н., профессором А.В.Козловым.

Принцип метода

Метод определения основан на способности фосфат-ионов образовывать с молибдатом аммония фосфорно-молибдатный комплекс, оптическая плотность которого при длине волны 340 нм прямо пропорциональна концентрации неорганического фосфора в анализируемом образце.

Состав набора

В состав набора реагентов входят следующие компоненты:

- реагент 1 (молибденовый реагент), содержащий серную кислоту, 380 ммоль/л; натрий хлористый, 150 ммоль/л; молибдат аммония, 1,9 ммоль/л; готов к применению - 2 флакона (по 100 мл);
- реагент 2 (детсргент), содержащий твин 20, 407 ммоль/л, в метаноле; готов к применению - 1 флакон (2,5 мл);
- калибратор, содержащий неорганический фосфор, 1,615 ммоль/л, готов к применению - 1 флакон (2,0 мл).

Аналитические характеристики

Линейная область определения концентрации неорганического фосфора - в диапазоне от 0,2 до 6,5 ммоль/л, отклонение от "линейности" - не более 3%.

Чувствительность определения - не более 0,15 ммоль/л.

Коэффициент вариации результатов определений - не более 3%.

Величина оптической плотности стабильна в течение 60 минут.

Качество набора может проверяться при помощи отечественных или зарубежных контрольных сывороток, аттестованных данным методом.

Нормальные величины содержания неорганического фосфора в сыворотке крови человека: у взрослых - 0,87-1,45 ммоль/л, у новорожденных - 1,13-2,78 ммоль/л, у детей дошкольного возраста - 1,45-2,10 ммоль/л, у детей школьного возраста - 1,45-1,78 ммоль/л.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон значений нормальных величин для обследуемого контингента.

Анализируемые образцы

Негемолизированная сыворотка крови человека.

Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

В состав компонентов набора входят серная кислота и метанол. При работе с набором следует не допускать их попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При попадании внутрь следует немедленно выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

При работе с набором необходимо соблюдать "Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР" (Москва, 1981 г.).

При работе с набором следует использовать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы сыворотки крови человека являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять или передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Оборудование, материалы и реагенты:

- Спектрофотометр или фотозлектроколориметр, длина волны 340 нм, кювета с длиной оптического пути 1,0 см;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,02 мл и 2,0 мл;
- колба коническая вместимостью 100 мл;
- пробирки стеклянные химические вместимостью 5,0-10 мл;
- вода бидистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

Подготовка к анализу

Приготовление рабочего реагента

Перед проведением анализа смешать в колбе вместимостью 100 мл необходимое количество реагента 1 и реагента 2 в соотношении 100:1.

Полученный рабочий реагент можно хранить при комнатной температуре (+18-25°C) в темном месте в плотно закрытой посуде не более 2 недель.

Проведение анализа

Компоненты реакционной смеси отобрать в количествах, указанных в таблице.

Таблица

Компоненты реакционной среды	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Рабочий реагент, мл	2,0	2,0	2,0
Сыворотка крови, мл	0,02	-	-
Калибратор, мл	-	0,02	-
Вода бидистиллированная, мл	-	-	0,02

Пробы тщательно перемешать и выдержать в течение 5 минут при комнатной температуре (+18–25°C). Измерить оптическую плотность опытной и калибровочной проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 340 нм в кювете с длиной оптического пути 1,0 см. Величина оптической плотности растворов стабильна в течение 60 минут.

Расчеты

Концентрацию неорганического фосфора в сыворотке крови (С, ммоль/л) рассчитать по формуле:

$$C = \frac{E_{np}}{E_{кл}} \times 1,615 ,$$

где: E_{np} - оптическая плотность анализируемой пробы, ед. оп. плотн.;

$E_{\text{кал}}$ – оптическая плотность калибратора, ед. опт. плотн.;

1,615 - концентрация неорганического фосфора в калибраторе, ммоль/л.

Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при комнатной температуре в темном месте в течение всего срока годности.

Срок годности набора - 12 месяцев.

Рабочий реагент можно хранить при комнатной температуре (+18-25°C) в темном месте в плотно закрытой посуде не более 2 недель.

Реагент 1 и реагент 2 после вскрытия флакона можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытом флаконе не более 6 месяцев.

Калибратор после вскрытия флакона можно хранить при комнатной температуре не более 6 месяцев.

Для проведения анализа рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки со сменяемыми наконечниками, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов дозирования, а также одноразовую пластиковую посуду.

Основным источником ошибок является недостаточно отмытая от фосфорсодержащих моющих средств стеклянная посуда. В связи с этим стеклянную посуду перед использованием рекомендуется замачивать на несколько часов в 1,0 моль/л растворе соляной кислоты, после чего тщательно промыть и ополоснуть бидистиллированной или деионизованной водой.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

По вопросам, касающимся качества набора ФН-ОЛЬВЕКС, следует обращаться в
ООО «Ольвекс Диагностикум» по адресу:

195197, г. Санкт-Петербург, пр. Обуховской обороны, 70.

Тел: (812) 567-84-46, (812) 567-83-02;

Факс: (812) 567-84-29

и в Институт государственного контроля лекарственных средств ФГУ «НЦ ЭСМП» ФС
НЗСР по адресу:

117246, г. Москва, Научный проезд, д. 14 А.

Тел: (095) 120-60-95, 120-60-96.

Директор по науке

ООО «Ольвекс Диагностикум»

к.б.н.



З.А.Тупикова

Заведующий кафедрой клинической
лабораторной диагностики СПбМАПО,
д.м.н., профессор



А.В.Козлов