

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ НЕОРГАНИЧЕСКОГО ФОСФОРА В СЫВОРОТКЕ, ПЛАЗМЕ КРОВИ И МОЧЕ (КАТ.№ В-11961)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для фотометрического количественного определения содержания неорганического фосфора в сыворотке, плазме крови и моче в научных исследованиях. Набор рассчитан на 200 определений при конечном объеме реакционной смеси 4 мл.

ПРИНЦИП МЕТОДА

В кислой среде фосфорная кислота образует с молибдатом аммония фосфорно-молибденовую гетерополиоксидную кислоту, которая восстанавливается эйконогеном с образованием ярко окрашенного комплексного соединения синего цвета. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации неорганического фосфора в исследуемой пробе.

СОСТАВ НАБОРА

- Реагент 1. Трихлоруксусная кислота (ТХУ), 500 г/л 100 мл
- Реагент 2. Молибденовый реактив 100 мл
- Реагент 3. Раствор эйконогена 25 мл
- Реагент 4. Калибратор (1-зам. фосфат калия),
2 ммоль/л 10 мл

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность – не более 0,2 ммоль/л.
Линейность. От 0,2 до 5,0 ммоль/л. Отклонение от линейности – не более 5%.
Коэффициент вариации – не более 5%.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Во избежание возможного инфицирования при работе с образцами крови необходимо надевать одноразовые резиновые перчатки.
При использовании наборов следует соблюдать правила техники безопасности при работе с едкими веществами и агрессивными веществами.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Спектрофотометр, фотоэлектроколориметр, дозаторы, позволяющие отбирать объем 0,01-5,0 мл, секундомер, пробирки, вместимостью 10-20 мл, штатив, дистиллированная вода.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Свежая сыворотка крови, моча.
Сыворотка натощак. Не допускать гемолиза и длительного венозного стаза. Отделить от эритроцитов в течение 1 часа после сбора. Мочу для предотвращения оседания фосфатов подкислить 10% соляной кислотой (10 мл на суточный объем мочи). Мочу перед определением развести дистиллированной водой в 10-20 раз. Учесть разведение при расчёте.
Фосфор в сыворотке крови стабилен при 4°C в течение нескольких дней, при -20°C – в течение нескольких месяцев [1, 2].

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны 625 нм (630-690 нм).
Кювета с длиной оптического пути 10 мм.
Температура проведения реакции 18-25°C.
Приготовить пробы в соответствии со схемой определения (объемы компонентов могут быть пропорционально изменены).

Схема определения

Раствор	Опытная проба	Калибровочная проба	Холодная проба
Образец, мл	0,5	–	–
Калибратор, мл	–	0,5	–
Дистиллированная вода, мл	4,0	4,0	4,5
Реагент 1, мл	0,5	0,5	0,5
<i>Все пробы тщательно перемешать, выдержать при 18-25°C в течение 10 мин. и центрифугировать при 1500 об/мин. в течение 10 мин. Отобрать супернатант и внести в пробирки:</i>			
Супернатант, мл	2,5	2,5	2,5
Дистиллированная вода, мл	0,9	0,9	0,9
Реагент 2, мл	0,5	0,5	0,5
Реагент 3, мл	0,1	0,1	0,1

Все пробы тщательно перемешать, выдержать при 18-25°C в течение 30 мин. и измерить оптическую плотность опытной пробы (E_{обр.}) и калибровочной пробы (E_{кал.}) относительно холодной пробы.

Окраска стабильна не менее 3 часов.

РАСЧЁТ

Содержание фосфора **C** в анализируемой пробе рассчитать по формуле:

$$C = \frac{E_{обр.}}{E_{кал.}} \cdot 2 \text{ ммоль/л,}$$

где **2** – концентрация фосфора в калибраторе, ммоль/л.

ПРИМЕЧАНИЕ

При содержании неорганического фосфора в исследуемой пробе выше 5 ммоль/л, образец необходимо разбавить дистиллированной водой в 2 раза. Анализ повторить, величину рассчитанной концентрации умножить на 2.

НОРМАЛЬНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Справочно.

Сыворотка или плазма человека	1 – 2 ммоль/л
Суточная моча человека	0,6 – 1,2 г/сутки

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре 2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (12 месяцев). Калибратор фосфора после вскрытия допускается хранить в плотно закрытом флаконе при 2-8°C 6 месяцев.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества может быть проведён по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Обеспечение качества лабораторных исследований. Преаналитический этап. Под ред. В.В. Меньшикова, М., 1999, "Лабинформ".
2. Энциклопедия клинических лабораторных тестов. Под ред. Н.У. Тица, М., 1997, "Лабинформ".