

LFOSFOR ANORGANICKÝ

Diagnostická reagentie pro kvantitativní in vitro stanovení fosforu v séru, plazmě nebo moči fotometricky.

Katalogové číslo:

11354 500 ml (5 x 80 ml + 1 x 100 ml)

Shrnutí^{1,2}:

Fosfor existuje jako fosfát v celém těle, převážně jako anorganická součást kostí, ale také v buňkách ve fosfolipidech a v nukleových kyselinách stejně jako v adenosintrifosfátu, který je nezbytný pro energetický transport. V plazmě je přítomen jako fosforečnan vápenatý, protože hladina plazmatického fosforu je úzce spojená s hladinou vápníku. Měření fosforu v séru a moči hraje úlohu při určení onemocnění ledvin, kostí a štítné žlázy. Zvýšená koncentrace může být způsobena renálním selháváním, hypoparathyreodismem, pseudo-hypoparathyreodismem nebo poklesem fosforečnanu vápenatého v kostech a buňkách. Snížené hodnoty nastávají při malnutrici, hyperparathyroidismu a deficitu vitamínu D. Další informace lze získat při současném stanovení vápníku.

Metoda:

Fotometrické UV stanovení metodou endpoint.

Princip:

Molybdenan amonný + kyselina sírová + fosfát → fosfomolybdenanový komplex

Absorbance měřená při 340 nm je přímo úměrná množství anorganického fosforu ve vzorku.

Reagentie:

Diagnostické použití in vitro.

Reagentie, skladované při teplotě 2–8°C, jsou stabilní dle deklarovaného data na balení. Reagentie nesmí být zmrazeny.

Reagentie:

Složení a koncentrace:

R1:

Glycinový pufr 50 mmol/l
Kyselina sírová

R2:

Glycinový pufr 50 mmol/l
Molybdenan amonný 1,75 mmol/l

Příprava reagenčních roztoků:

1. Start substrátem: činidla R1 a R2 jsou připravena k přímému použití a jsou stabilní dle deklarovaného data na balení, skladovat při 2–8°C.

2. Start vzorkem: Činidla smíchat v poměru 4 + 1 (např. 20 ml R1 + 5 ml R2), směsné činidlo je stabilní 1 rok při 2–8°C.

Další potřebné materiály:

NaCl roztok 9 g/l

Obecné laboratorní vybavení.

Vzorek:

Sérum, heparinizovaná plazma nebo moč⁵.

Stabilita v séru a plazmě:

1 den při 20–25°C
4 dny při 4–8°C
1 rok při –20°C

Vzorky lze zamrazit pouze jednou.

Stabilita v moči:

2 dny při 20–25°C, pH < 5

Nutno zabránit kontaminaci vzorku.

Při 24 hodinovém sběru moči přidat do sběrné láhve 10 ml HCl 0,1M, aby se zabránilo srážení fosforu.

Vzorky moči se před stanovením ředí v poměru 1 + 10 destilovanou vodou a výsledek násobit 11x.

Pracovní postup:

Aplikace pro automatické analyzátoři je dostupná na vyžádání.

Vlnová délka: 340 nm, Hg 334 nm, Hg 365 nm
660 nm bichromatické měření

Kyveta: 1 cm

Teplota: 20–25°C / 37°C

Měření: proti reagenčnímu blanku

1. Start substrátem:

	Vzorek/ml	Standard/ml	Blank/ml
Vzorek	0,01	-	-
Dest. voda	-	-	0,01
Standard	-	0,01	-
R1	0,80	0,80	0,80

Promíchat a po 5 minutách změřit absorbanci A_1 vzorku (A_s), standardu (A_{st}) a blanku (A_{bl}). Přidat:

R2	0,20	0,20	0,20
----	------	------	------

Promíchat a po 5 minutách změřit absorbanci A_2 vzorku (A_s), standardu (A_{st}) a blanku (A_{bl}). Zabarvení je stabilní 60 min.

2. Start vzorkem:

	Vzorek/ml	Standard/ml	Blank/ml
Vzorek	0,01	-	-
Dest. voda	-	-	0,01
Standard	-	0,01	-
R1+R2	1,00	1,00	1,00

Promíchat, inkubovat 5 minut změřit absorbanci vzorku (A_s), standardu (A_{st}) a blanku (A_{bl}). Zbarvení je stabilní 60 minut.

Výpočet:

$$C_{\text{fosforu}} = C_{st} \cdot (\Delta A_s - \Delta A_{bl}) / (\Delta A_{st} - \Delta A_{bl}) \quad [\text{mmol/l}]$$

C_{st} koncentrace standardu uvedená v atestu [mmol/l]

A_s absorbance vzorku

A_{st} absorbance standardu

A_{bl} absorbance blanku

Výsledek se vydá v mmol/l na 2 platná desetinná místa.

Kalibrace:

Ke kalibraci je doporučen kalibrátor Biocal (k.č. C00.003). Přímá návaznost tohoto kalibrátoru je na NIST-SRM 723, koncentrace byla stanovena s celkovou nejistotou $U_{cal} = 3,21\%$.

Řízení kvality:

Pro vnitřní kontrolu kvality platí doporučení ČSKB SIKK, které je dostupné na webové stránce <http://www.cskb.cz> a pro externí hodnocení kvality je třeba využít některý komerčně dostupný systém, jehož výsledky jsou v ČR akceptovány. Bližší informace na <http://www.sekk.cz>.

Pro interní kontrolu kvality použijte kontrolní séra:

Bionorm U	kat.č. C00.001	20 x 5 ml
Biopath U	kat.č. C00.002	20 x 5 ml

Referenční hodnoty:

Sérum¹:

Dospělí: 0,84-1,45 mmol/l

Děti/adolescenti:

1-30 dní	1,25-2,50 mmol/l
1-12 měsíců	1,15-2,15 mmol/l
1-3 roky	1,00-1,95 mmol/l
4-6 roků	1,05-1,80 mmol/l
7-9 roků	0,95-1,75 mmol/l
10-12 roků	1,05-1,85 mmol/l
13-15 roků	0,95-1,65 mmol/l
16-18 roků	0,85-1,60 mmol/l

Plazma³:

Koncentrace anorganického fosforu je o 0,06 – 0,10 mmol/l nižší v heparinované plazmě než v séru.

Moč⁴: 12,9-42,0 mmol/24 hod

Každá laboratoř by si měla ověřit, jestli jsou tyto referenční hodnoty vhodné i pro jejich populaci pacientů a stanovit svoje vlastní referenční hodnoty pokud je to nutné.

Měřicí rozsah/linearita:

0,065- 9,69 mmol/l

Funkční senzitivita/mez stanovitelnosti:

0,065 mmol/l

Analytická senzitivita/citlivost:

0,033 mmol/l

Bias:

0,9% (pro 1,620 mmol/l)

0,2% (pro 0,975 mmol/l)

Nejistota:

Byla stanovena z nejistoty kalibračního materiálu a nejistoty měření jako rozšířená standardní nejistota ($k=2$)

$$U_{st} = 2\sqrt{(U_{cal}^2 + U_{method}^2)} = 2\sqrt{(3,21^2 + 3,09^2)} = 8,92\%$$

Analytická selektivita:

Kyselina askorbová do 1,7 mmol/l, bilirubin do 1,03 mmol/l, hemoglobin do 10 g/l a lipémie do 22 mmol/l triglyceridů neruší stanovení. Více informací o interferujících látkách naleznete v Young DS⁶.

Přesnost (37 °C):

Přesnost v sérii: (n=20)

Vzorek	Průměr mmol/l	SD mmol/l	CV %
vzorek 1	0,66	0,011	1,61
vzorek 2	1,26	0,014	1,12
vzorek 3	1,88	0,016	0,86

Přesnost ze dne na den: (n=20)

Vzorek	Průměr mmol/l	SD mmol/l	CV %
vzorek 1	0,68	0,015	2,22
vzorek 2	1,51	0,020	1,31
vzorek 3	1,91	0,021	1,07

Srovnání metod:

Srovnání stanovení mezi diagnostickou soupravou BioVendor ¹Fosfor anorganický (y) a komerčně dostupnou soupravou (x) bylo provedeno na 75 vzorcích. Rovnice regresní přímky má tvar: $y = 1,016x - 0,05$ mmol/l; $r = 1,000$.

Upozornění:

1. Vzorky s koncentrací fosforu vyšší než 9,69 mmol/l je nutno ředit 1+10 0,9% NaCl a výsledek násobit 11x.
2. Reagencie 1: Upozornění. H290 může způsobit korozi kovu. Skladujte pouze v originálním obalu. P280 - používejte ochranné rukavice/ochranný oděv /ochranu očí. P390 – utřete rozlité zbytky, abyste zamezili poškození materiálu.
3. Ve vzácných případech u pacientů s gamapathií se mohou vyskytnout falešné výsledky (7).
4. Při práci s touto reagentií dodržujte nutná bezpečnostní opatření. Více informací naleznete v Bezpečnostním listu. Pro diagnostické použití, výsledky by měly být

posuzovány v kontextu historie léčby pacienta, klinickými zkouškami a dalšími nálezy.

5. K umývání skla nelze použít detergenty s obsahem fosfátů.

6. Pouze pro použití odborně vyškoleným personálem!

7. Likvidujte v souladu s platnými předpisy.

Literatura:

1. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p 241-7.

2. Endres D.B, Rude RK. Mineral and bone metabolism. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1999. p. 1395-1457.

3. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 4th ed. Elsevier Saunders; 2006. p. 1908

4. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 4th ed. Elsevier Saunders; 2006. p. 2290.

5. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 40-1, 52-3.

6. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.

7. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assay: mechanisms, detection and prevention. ClinChemLabMed 2007;45(9):1240-1243.

Vyrobeno:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Karásek 1767/1, 621 00 Brno, Česká republika