

UPOTREBA

Reagens se koristi za određivanje koncentracije fosfora u serumu, plazmi i urinu.

METODA

UV spektrofotometrijski metod.

KLINIČKI ZNAČAJ

Najveći udeo fosfora se nalazi u kostima u obliku hidroksiapatita. Anjon fosfat se nalazi kao neorganski fosfor i u obliku fosfat estara. Koncentracije kalcijuma i fosfora se nalaze u serumu u recipročnom odnosu. Povećanje nivoa fosfora nastaje kod D hipervitaminoze, hipoparatiroidizma i renalne disfunkcije. Do smanjenja nivoa fosfora u serumu dolazi usled nedostatka vitamina D, hiperparatiroidizma i kod Fankonijevog sindroma.

PRINCIP ODREĐIVANJA

U kiselom medijumu, neorganski fosfat gradi sa amonijum molibdatom amonijumfosfomolibdatni kompleks koji apsorbuje u UV oblasti ($\lambda=340$ nm). Dodati deterdženti sprečavaju precipitaciju proteina i stabilizuju sistem¹⁻³.

REAGENSI

Fosfor, Ref: FOS-200 se sastoji od 1 reagensa i 1 standarda:

Rg.1 (Molibdatni reagens)	2 x 100 mL
Rg.2 (Standard fosfora)	1 x 5 mL

SASTAV REAGENASA

Rg.1 Molibdatni reagens

Amonijum molibdat	0,90 mmol/L
Sumporna kiselina	280 mmol/L
Surfaktant	

Rg.2 Standard fosfata	1,00 mmol /L
------------------------------	--------------

UPOZORENJE

- Koristiti isključivo za dijagnostiku *in vitro*.
- Voditi računa o propisanoj eliminaciji otpada. Ako se odbacuje u kanalizaciju, isprati velikom količinom vode.
- Da bi se izbegla kontaminacija koristiti čist pribor ili laboratorijsku opremu za jednokratnu upotrebu.

PRIPREMA REAGENSA

Reagens je spreman za upotrebu.

STABILNOST REAGENSA

Originalno pakovan reagens stabilan je do datuma označenog na pakovanju, ako se čuva pod propisanim uslovima. Otvoren reagens je podložan kontaminaciji i upotrebljiv je 90 dana ako se čuva na 2-8°C.

UZORCI

Kao uzorak koristiti nehemolizovan, nelipemičan serum, plazmu pripremljenu sa EDTA i urin. Uzorak urina razblažiti sa fiziološkim rastvorom (1+19) i dobiti rezultat pomnožiti sa 20.

DODATNI POTREBNI MATERIJALI

Opšta laboratorijska oprema i rastvori

- Multikalibrator	Ref: KLB-012	4x3 mL
- Kontrolni serum N	Ref: KSN-020	4x5 mL
- Kontrolni serum P	Ref: KSP-020	4x5 mL

ANALITIČKA PROCEDURA

Analitički parametri testa:

Talasna dužina : $1^{\circ}/2^{\circ}$	340/380 nm
Kiveta :	1 cm
Temperatura :	30, 37° C
Odnos : uzorak / reagens	1 / 50
Reakcija :	End Point
Inicijalna A reagensa :	< 0.5 Abs

Pipetirati u epruvete :

	Auz	Ast	Asp
Uzorak	20 μ L	-	-
Standard	-	20 μ L	-
Destilovanu vodu	-	-	20 μ L
Radni reagens	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Pripremljene rastvore promešati i inkubirati 3 minuta na temperaturi od 20-37°C, a zatim izmeriti apsorbancije uzorka (A_{UZ}) i standarda (A_{ST}) prema slepoj probi reagensa (A_{SPR}) na 340 nm. Merenja apsorbancija izvršiti u toku 30 minuta.

KALIBRACIJA

Za kalibraciju koristiti standard fosfata ili multikalibrator

Tip kalibracione krive : Linearan

Rekalibraciju vršiti :

- nakon promene serije reagensa
- ukoliko su dobijene vrednosti kontrola izvan prihvatljivog opsega

KONTROLA KVALITETA

Za kontrolu kvaliteta preporučuje se korišćenje kontrolnih seruma.

IZRAČUNAVANJE

$$c = \frac{A_{UZ}}{A_{ST}} \cdot c_{ST} \text{ (mmol/L)}$$

NAPOMENA

Kod lipemičnih, ikteričnih i hemolizovanih uzoraka uraditi i slepu probu uzorka koristeći fiziološki rastvor tj. otpipetirati u epruvetu 20 μ L uzorka i 1,0 mL fiziološkog rastvora, promešati i izmeriti apsorbanciju slepe probe uzorka (A_{SPU}) prema fiziološkom rastvoru na $\lambda=340$ nm. Izračunavanje nepoznate koncentracije fosfata vrši se na sledeći način:

$$c = \frac{A_{UZ} - A_{SPU}}{A_{ST}} \cdot c_{ST} \text{ (mmol/L)}$$

REFERENTNE VREDNOSTI

Serum: Odrasli: 0,8 - 1,6 mmol/L
Deca: 1,3 - 2,3 mmol/L
Urin: 25 - 65 mmol/24h

ANALITIČKE KARAKTERISTIKE TESTA

Parametri validacije su izračunati na osnovu rezultata ispitivanja na analizatorima Roche 902 i Abbott –Alcion.

Opseg merenja

Od 0,03 do 4,20 mmol/L fosfora.

Ukoliko je koncentracija fosfora veća od 4,2mmol/L, razblažiti uzorak (1+ 2) sa fiziološkim rastvorom i rezultat pomnožiti sa 3.

Limit detekcije (LOD) i limit kvantifikacije (LOQ)

LoD = 0,01 mmol/L

LoQ = 0,03 mmol/L

Osetljivost određivanja (S)

$S = A/c = 0,403 \Delta Abs$ po mmol/L

Interferencije

Na određivanje fosfora ne utiču sledeći parametri:

bilirubin u koncentraciji (c) < 40 mg/dL

hemoglobin u c < 520 mg/dL

trigliceridi u c < 360 mg/dL.

Tačnost određivanja

Za određivanje tačnosti korišćen je kalibrator čija vrednost iznosi

1,53 mmol/L, pri čemu su dobijene sledeće statističke vrednosti:

$X_{sr} = 1,53$ $S_d = 0,024$ $KV = 1,58 \%$

Preciznost određivanja

Reproducibilnost unutar serije

Normalan serum $X_{sr} = 1,28$ $S_d = 0,035$ $KV = 2,71 \%$

Patološki serum $X_{sr} = 2,08$ $S_d = 0,048$ $KV = 2,30 \%$

Reproducibilnost između serija

Normalan serum $X_{sr} = 1,27$ $S_d = 0,038$ $KV = 3,00 \%$

Patološki serum $X_{sr} = 2,08$ $S_d = 0,051$ $KV = 2,47 \%$

Korelacija

Urađena je komparativna analiza^{4,5} između metode firme

BIOANALYTICA i komercijalnog testa druge firme na 45 uzoraka

humanog seruma. Dobijeni su sledeći parametri linearne regresione analize:

$r = 0,9993$

$y = 1,0006 x - 0,003$

LITERATURA

1. N.W. Tietz, Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd edition Philadelphia, Pa:W.B. Saunders, 328-330, 1987.
2. B.T. Doumas W.A. Watson, H.G. Biggs. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. Clin Chim Acta, 31, 87-96, 1971.
3. H. Passing, W.A. Bablok, A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part I. J ClinChem and Clin Biochem 21(11), 709-720, 1983.
4. W. Bablok H. Passing, R. Bender, B. Schneider. A general regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem and Clin Biochem 26 (11), 783 - 790, 1988.



Bioanalytica d.o.o.
Agostina Neta 84/2, Beograd,
Srbija
www.bioanalytica.rs



Bioscience Medical SL
Velazquez 126, 7AB,
Madrid, Spain



Broj rešenja o upisu : _____