

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 2010 г. № _____ -Пр/010

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор Управляющей компании

«Эйлитон» - ООО «Юнимед-менеджмент»

А.Н.Шибанов

2010 г.

ИНСТРУКЦИЯ

Набор реагентов для количественного определения содержания мочевины в сыворотке или плазме крови и моче человека, ферментативным УФ-кинетическим методом «МОЧЕВИНА-УФ-УТС»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

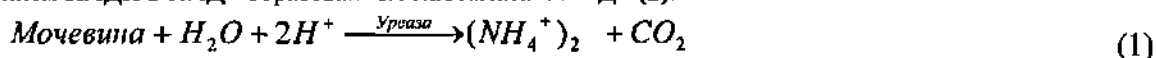
1.1. Набор реагентов предназначен для количественного определения содержания мочевины в сыворотке или плазме крови и моче человека, ферментативным УФ-кинетическим методом в клинико-диагностических лабораториях и научно-исследовательской практике.

1.2. Набор выпускается в двух видах фасовок и рассчитан, на проведение 100, или 500 определений при расходе 1,0 мл рабочего реагента на один анализ.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

2.1.1 Мочевина в анализируемом образце ферментативно под действием уреазы гидролизует до ионов аммония (NH_4^+) и углекислого газа (CO_2) (1). Образовавшиеся ионы аммония вступают в реакцию с альфа-оксoglutarатом и НАДН в присутствии фермента глутаматдегидрогеназы (ГЛДГ) с одновременным окислением НАДН в НАД⁺ образованием глутамата и НАД⁺ (2):



Понижение оптической плотности при окислении НАДН прямо пропорционально концентрации мочевины в исследуемом образце.

2.2. Клиническая диагностика

2.2.1. Мочевина является конечным продуктом метаболизма белков в организме. Она выводится из организма посредством клубочковой фильтрации, 40-50% ее ресорбируется канальцевым эпителием почек и активно секретируется тубулярными клетками. При патологии сдвиги в уровне мочевины крови зависят от соотношения процессов мочевинообразования и ее выделения. Пониженное содержание мочевины в крови особого диагностического значения не имеет. Повышенное содержание мочевины в крови наиболее часто возникает в результате нарушения выделительной функции почек, при развитии острой почечной недостаточности, при задержке выделения мочи какими-либо препятствиями в мочевыводящих путях (камень, опухоль).

2.2.2. Клинический диагноз не может быть поставлен по результатам одного анализа, он должен объединять как клинические, так и лабораторные данные.

2.3. Состав набора

Наименование	Состав	Концентрация
Реагент 1. ферментно-буферный раствор	TRIS pH 7.8	80 ммоль/л
	α -Кетоглутарат	6 ммоль/л
	Уреаза	75000 Е/л
Реагент 2. буферно-субстратный раствор	ГЛДГ	60000 Е/л
	НАДН	0,32 ммоль/л
Калибратор	Водный раствор мочевины	8,3 ммоль/л (50 мг/100мл)

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Набор обеспечивает линейную область определения содержания мочевины в диапазоне 0,5 ммоль/л (3 мг/100 мл) до 60 ммоль/л (360 мг/100мл), отклонение от линейности не превышает 5%. Чувствительность – не более 0,2 ммоль/л (1,2 мг/100 мл), коэффициент вариации результатов определений – не более 5%.

3.2. Качество набора можно оценивать по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

3.3. Нормальные величины содержания мочевины составляют:

- в сыворотке или плазме крови: 2,5 – 7,5 ммоль/л (15-45 мг/100мл)
- в моче: 428-714 ммоль/л (20-35 мг/100 мл)

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

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- 4.1. Потенциальный риск применения набора – класс I.
- 4.2. 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.).
- 4.3. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

- 5.1. Спектрофотометр, программируемый фотометр или анализатор, длина волны 340 нм (334), кювета с длиной оптического пути 10 мм;
- термостат, обеспечивающий температуру +37 °С;
 - секундомер;
 - пипеточные дозаторы, позволяющие отбирать объемы жидкости 10, 1000 мкл;
 - 0,9% раствор NaCl (физиологический раствор);
 - перчатки резиновые или пластиковые.

Внимание! Следует избегать присутствия следов ионов аммония на стеклянной посуде и в дистиллированной воде.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

- 6.1. Негемолизированная сыворотка или гепаринизированная плазма крови. Сыворотку или плазму крови следует отделить от форменных элементов крови как можно быстрее после забора крови. Образцы стабильны до 72 часов при 2 – 8 °С, или при комнатной температуре 8 часов.
- 6.2. Мочу следует развести в 50 раз дистиллированной водой, тщательно перемешать. Результат определения умножить на 50.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

- 7.1. Рабочий реагент готовится смешиванием 4 объема Реагента 1 с 1 объемом Реагента 2. Рабочий реагент стабилен 7 дней при 15-25 °С, 6 недель при 2 – 8 °С.

- 7.2. Компоненты реакционной смеси отбирать в количествах, указанных в таблице:

Объем, мкл	Калибровочная проба	Анализируемый образец
Рабочий реагент	1000	1000
Калибратор	10	-
Анализируемый образец	-	10

Примечание. При использовании автоматических или полуавтоматических биохимических анализаторов количество реагентов и анализируемых образцов в зависимости от объема используемой кюветы может быть пропорционально изменено (соотношение сыворотки или плазмы крови к реагенту составляет 1:100).

- 7.2 Пробы перемешать, запустить отсчет времени и инкубировать в течение 30 секунд при выбранной температуре (18-25 или 37 °С).

8. ПРОВЕДЕНИЕ ИЗМЕРЕНИЙ

- 8.1. Измерить оптическую плотность калибратора ($A_{\text{кал1}}$) и анализируемого образца ($A_{\text{обр1}}$) при длине волны 340 нм против воды. Повторить измерения через 90 с после смешивания проб ($A_{\text{кал2}}$ и $A_{\text{обр2}}$ соответственно). Вычислить изменение оптической плотности в минуту для образцов $\Delta A_{\text{обр}} = (A_{\text{обр1}} - A_{\text{обр2}})$; и калибраторов $\Delta A_{\text{кал}} = (A_{\text{кал1}} - A_{\text{кал2}})$.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

- 9.1 Концентрация мочевины в сыворотке или плазме крови человека в ммоль/л определить по формуле:

$$C = \frac{\Delta A_{\text{обр}}}{\Delta A_{\text{кал}}} \times C_{\text{кал}}$$

где: C – концентрация мочевины в исследуемом образце, ммоль/л;

$\Delta A_{\text{обр}}$ – изменение оптической плотности анализируемой пробы за минуту, ед.опт.пл.;

$\Delta A_{\text{кал}}$ – изменение оптической плотности калибровочной пробы за минуту, ед. опт.пл.;

$C_{\text{кал}}$ – концентрация мочевины в калибраторе, равная 8,3 ммоль/л

- 9.2. Если результаты измерений превышают предел линейности, анализируемый образец следует развести физиологическим раствором (NaCl - 9 г/л) в 2 раза, провести повторные измерения и полученный результат определения умножить на 2.

- 9.3. Содержание мочевины в моче (в ммоль/л) определить по формуле:

$\Delta A_{\text{кал}}$ изменение оптической плотности калибровочной пробы образца за минуту, ед.опт.пл.;

$C_{\text{кал}}$ – концентрация мочевины в калибраторе, равная 8,3 ммоль/л

50 - коэффициент разведения мочи

Коэффициент пересчета: мг/дл $\times 0,1665$ = ммоль/л

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор реагентов «МОЧЕВИНА-УФ - UTS» должен храниться в темном месте, при температуре +2-8 °С в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.2. Срок годности набора – 18 месяцев.

10.3. Калибратор после вскрытия флакона может храниться при температуре +2-8 °С в плотно закрытом флаконе в темном месте в течение 1 при соблюдении мер против контаминации при его использовании.

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



Руководитель отдела производства реагентов

ООО «ЭЙНТОН»

И.б.н.

Нечаев В.Н.

«Согласовано»

зав. кафедрой клинической
лабораторной диагностики ГОУ ДПО
«РМАПО Росздравнадзора»

д.м.н., профессор Долгов В.В.

«23» августа 2010 г

По вопросам, касающимся качества набора «МОЧЕВИНА-УФ - UTS» следует обращаться в ЗАО «А/О Юнимед» по адресу: 129301, Москва, ул. Касаткина, 3а; Тел. (495) 734-91-31, 8-800-333-91-31.

Факс: (495) 564-86-41.

E-mail: office@unimeda.ru

http://www.unimeda.ru

