

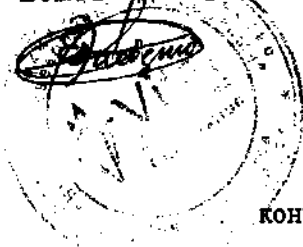
УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 2011 г. № _____

КОПИЕ ВЕРНА
Г.П. № 0000000000

Е.Н. СКОЛЛЬ-ЭНГБЕРТС



УТВЕРЖДАЮ

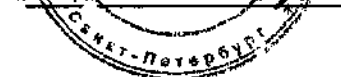
Генеральный директор

ООО «Витал Девелопмент Корпорейшн»

Е.Н. СКОЛЛЬ-ЭНГБЕРТС

«Витал Девелопмент Корпорейшн»

2011 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения
концентрации мочевины в сыворотке (плазме) крови и моче
унифицированным методом с диацетилмонооксимом

(Мочевина-Витал)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор Мочевина-Витал предназначен для количественного определения концентрации мочевины унифицированным методом с диацетилмонооксимом в сыворотке (плазме) крови и моче в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и в научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 400 определений при расходе 2,0 мл рабочего реагента на один анализ.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Мочевина с диацетилмонооксимом в кислой среде в присутствии тиосемикарбазида и ионов трехвалентного железа образует окрашенный комплекс красного цвета, интенсивность окраски которого прямо пропорциональна концентрации мочевины в анализируемой пробе и измеряется фотометрически при длине волны 540 (490-540) нм.

СОСТАВ НАБОРА

В состав набора входят:

- реагент 1: раствор диацетилмонооксима, 40 ммоль/л - 1 флакон (100 мл);
- реагент 2: раствор серной кислоты, 7,2 моль/л - 1 флакон (100 мл);
- реагент 3: раствор тиосемикарбазида (тиосемикарбазид, 38,4 ммоль/л; кислота соляная, 1,0 ммоль/л) - 1 флакон (25 мл);
- реагент 4: раствор хлорного железа (железа хлорид, 5,0 ммоль/л; кислота ортофосфорная, 50 ммоль/л; кислота серная, 170 ммоль/л) - 1 флакон (5,0 мл);
- калибратор (калибровочный раствор мочевины, 8,33 ммоль/л, в растворе бензойной кислоты, 0,15 %), готов к применению - 1 флакон (2,0 мл).

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейная область определения концентрации мочевины - в диапазоне от 2,5 до 20 ммоль/л, отклонение от «линейности» - не более 5 %.

Чувствительность определения - не более 2,0 ммоль/л.

Коэффициент вариации результатов определений - не более 5 %.

Качество набора может проверяться по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

Нормальные величины концентрации мочевины в сыворотке (плазме) крови составляют 2,5-8,3 ммоль/л, в моче - 350-580 ммоль/сут.

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

ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка или плазма крови, моча. Мочу перед определением следует развести дистиллированной водой в 25 или 100 раз.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора - класс 2а.

Реагент 3 содержит токсичный компонент - тиосемикрабазид, реагенты 2, 3 и 4 - серную, соляную и ортофосфорную кислоты. При работе с ними следует соблюдать осторожность и не допускать попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

Меры предосторожности — соблюдение «Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противозидемического 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 надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- Спектрофотометр, длина волны 540 нм, или фотозлектроколориметр, длина волны 490-540 нм, кювета с длиной оптического пути 10 мм;
- баня водяная, обеспечивающая температуру $+100 \pm 1^\circ\text{C}$;
- пробирки вместимостью 3,0-5,0 мл;
- колба коническая вместимостью 100 мл;
- секундомер;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,01; 1,0; 2,0 и 10 мл;
- фольга алюминиевая;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Приготовление рабочего реагента

В колбу коническую вместимостью 100 мл внести реагенты в следующей последовательности (последовательность не нарушать!): реагент 1 - 10 мл, реагент 2 - 10 мл, реагент 3 - 2,0 мл и реагент 4 - 0,4 мл, немедленно добавить 58 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать; реагент не должен иметь желтоватую окраску.

Полученный рабочий реагент можно хранить при комнатной температуре ($+18-25^\circ\text{C}$) не более 8 ч.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Компоненты реакционной смеси отобрать в количествах, указанных в таблице.

Таблица

Отмерить, мл	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Сыворотка (плазма) крови или разведенная моча	0,01	-	-
Вода дистиллированная	-	-	0,01
Рабочий реагент	2,0	2,0	2,0
Калибратор	-	0,01	-

Содержимое пробирок тщательно перемешать, закрыть пробирки колпачками из фольги алюминиевой и инкубировать в течение 10 мин в кипящей водяной бане при температуре +100°C. После окончания инкубации пробирки быстро охладить под струей холодной водопроводной воды и измерить оптическую плотность опытной и калибровочной проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 540 (490-540) нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм при комнатной температуре.

Окраска устойчива в течение 15 мин после охлаждения проб.

РАСЧЕТЫ

Концентрацию мочевины в сыворотке (плазме) крови (ммоль/л) определить по формуле:

$$C = \frac{E_{\text{оп}}}{E_{\text{кал}}} \times 8,33 ,$$

где: С - концентрация мочевины в анализируемой пробе, ммоль/л;

$E_{\text{оп}}$ - оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. плотн.;

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

8,33 - концентрация мочевины в калибраторе, ммоль/л.

Концентрацию мочевины в моче (ммоль/сут) определить по формуле:

$$C = \frac{E_{\text{оп}}}{E_{\text{кал}}} \times V \times K \times 8,33 ,$$

где: С - концентрация мочевины в анализируемой пробе, ммоль/сут;

$E_{\text{оп}}$ - оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. плотн.;

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

8,33 - концентрация мочевины в калибраторе, ммоль/л;

V - количество суточной мочи, л;

K - коэффициент разведения мочи.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при комнатной температуре (+18-25°C) в течение всего срока годности.

Срок годности набора - 18 мес.

Реагенты 1, 2, 3 и 4 после вскрытия флаконов можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытой посуде не более 6 мес; реагенты 1, 3 и 4 следует хранить в темноте.

Калибратор после вскрытия флакона можно хранить при температуре +2-8°C не более 3 мес.

Рабочий реагент можно хранить при комнатной температуре не более 8 ч.

Если концентрация мочевины в сыворотке (плазме) крови превышает 20 ммоль/л, анализируемую пробу следует развести дистиллированной водой в 2 раза, повторить определение и полученный результат умножить на 2.

Для отбора и добавления анализируемых проб и компонентов набора рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки со сменяемыми наконечниками, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования.

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

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» по адресу:

194 156, Санкт-Петербург, пр. Энгельса, д. 27.

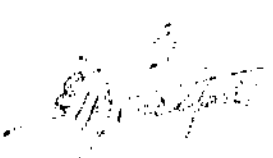
Тел/факс: (812) 326-61-98.

и на кафедру КЛД ГОУ ДПО «РМАПО Росздрава» по адресу:

116 000, Москва, 2-й Боткинский пр, д. 5.

Тел.: (495) 945-82-22.

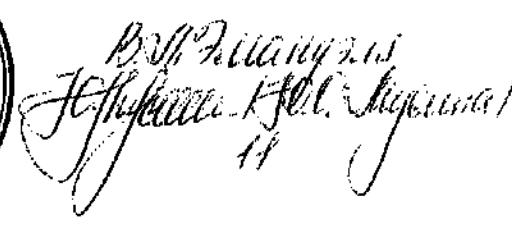
Генеральный директор
ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»


Е.Н. Схолль-Энгбертс

Зав. кафедрой клинической лабораторной
диагностики с курсом молекулярной медицины,
директор НЦ «Институт лабораторной медицины»
ГОУ ВПО СПБГМУ им. акад. И.П.Павлова Росздрава,
Главный специалист-эксперт
по клин. лаб. диагностике Росздравнадзора
по С-ЗФО, д. м. н., профессор


В.Л.Эмануэль




14