

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 2011 г. № _____

КОПИЯ ВЕРНА
ГЕН. ДИРЕКТОР

Е.Н. СКОЛЬ-ЭНГБЕРТС

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

Е.Н. Сколь-Энгбертс



2011 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения концентрации мочевины
в сыворотке (плазме) крови и моче уреазным фенол/гипохлоритным методом

(Мочевина-Витал)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор Мочевина-Витал предназначен для количественного определения концентрации мочевины в сыворотке (плазме) крови и моче уреазным фенол/гипохлоритным методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и в научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 100 определений при расходе 0,1 мл реагента 1 на один анализ.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Мочевина под действием уреазы гидролизуетсся с образованием карбоната аммония. Ионы аммония реагируют в щелочной среде в присутствии нитропруссида с фенолом и гипохлоритом, образуя окрашенный комплекс, интенсивность окраски которого прямо пропорциональна концентрации мочевины в анализируемом образце и измеряется фотометрически при длине волны 540 (490-600) нм.

СОСТАВ НАБОРА

В состав набора входят:

- реагент 1: раствор уреазы в буфере, состоящий из этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА), 27 ммоль/л; уреазы, 20 Е/л; гидроокиси натрия, 10 ммоль/л; готов к применению - 1 флакон (10 мл);
- реагент 2: гипохлорит, содержащий гидроокись натрия, 125 ммоль/л; гипохлорит натрия, 11 ммоль/л; готов к применению - 1 флакон (100 мл);
- реагент 3: фенол/нитропруссидный реагент, содержащий фенол, 106 ммоль/л; нитропруссид натрия, 0,17 ммоль/л; готов к применению - 1 флакон (100 мл);
- калибратор (калибровочный раствор мочевины, 5,0 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 2,0 до 32 ммоль/л, отклонение от «линейности» - не более 5 %.

Чувствительность определения - не более 1,0 ммоль/л.

Коэффициент вариации результатов определений - не более 5 %.

Окраска стабильна в течение 8 ч.

Качество набора может проверяться по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом. Калибратор в наборе восходит к стандартным материалам NIST.

Нормальные величины концентрации мочевины в сыворотке (плазме) крови составляют 2,5-8,3 ммоль/л, в моче – 335-583 ммоль/сут.

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

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка (плазма) крови, моча.

Перед проведением анализа свежую мочу следует развести дистиллированной водой в 100 раз.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Реагенты 1 и 2 содержат щелочь, реагент 3 содержит токсичный компонент - фенол. При работе с набором следует не допускать попадания этих реагентов на кожу и слизистые; при попадании следует промыть пораженное место большим количеством проточной воды.

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, фотоэлектроколориметр или программируемый фотометр, длина волны 490-600 нм, кювета с длиной оптического пути 10 мм;
- термостат, обеспечивающий температуру $+37 \pm 1^\circ\text{C}$;
- пробирки вместимостью 3,0-5,0 мл;
- секундомер;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,01; 0,1 и 1,0 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Внести в пробирки реагенты и анализируемые пробы в количествах, указанных в таблице.

Таблица

Отмерить, мл	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Реагент 1	0,1	0,1	0,1
Калибратор	-	0,01	-
Сыворотка (плазма) крови или разведенная моча	0,01	-	-
Вода дистиллированная	-	-	0,01

Содержимое пробирок тщательно перемешать и инкубировать в течение 5 мин при комнатной температуре ($+18-25^\circ\text{C}$). После окончания инкубации во все пробирки добавить по 1,0 мл реагента 2 и по 1,0 мл реагента 3. Пробы тщательно перемешать и инкубировать при температуре $+37^\circ\text{C}$ в течение 15 мин. После завершения инкубации измерить оптическую плотность опытной и калибровочной проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 540 (490-600) нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм.

Окраска стабильна в течение 8 ч.

РАСЧЕТЫ

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

$$C = \frac{E_{\text{оп}}}{E_{\text{кал}}} \times 5,0 ,$$

где: C - 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.;
 $5,0$ - концентрация мочевины в калибраторе, ммоль/л.

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

$$C = \frac{E_{\text{оп}}}{E_{\text{кал}}} \times V \times 100 \times 5,0,$$

где: C - концентрация мочевины в моче, ммоль/сут;
 $E_{\text{оп}}$ - оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. плотн.;
 $E_{\text{кал}}$ - оптическая плотность калибратора, ед. опт. плотн.;
 $5,0$ - концентрация мочевины в калибраторе, ммоль/л;
 V - количество суточной мочи, мл;
 100 - коэффициент разведения мочи.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться в темном месте при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до $+25^{\circ}\text{C}$ не более 5 сут.

Срок годности набора - 12 мес.

Реагент 1, реагент 2 и реагент 3 после вскрытия флаконов можно хранить в темном месте при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более 3 мес.

Калибратор после вскрытия флакона можно хранить в темном месте при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в плотно закрытом флаконе не более 3 мес.

При содержании мочевины в сыворотке (плазме) крови выше 32 ммоль/л анализируемую пробу следует развести дистиллированной водой, повторить определение и полученный результат умножить на разведение.

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. Сколь-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



Handwritten signatures and initials, including 'В.Л.Эмануэль' and others.

Прошито, пронумеровано,
и скреплено печатью

Всего 3 листа(-ов)

Ген. директор
Схолль-Энбертс Е.Н.

