

УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора

от _____ 20__ г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор

ЗАО «Вектор-Бест»



М.Д. Хусаинов

_____ 2011 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для ферментативного определения
концентрации мочевины в сыворотке, плазме крови и моче (кинетический УФ-метод)
(МОЧЕВИНА-УФ-НОВО жидкая форма)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов **МОЧЕВИНА-УФ-НОВО жидкая форма** предназначен для количественного определения содержания мочевины в сыворотке, плазме крови и моче человека кинетическим УФ-методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

1.2. Набор рассчитан, в зависимости от варианта комплектации, на проведение 200 (вариант 1) или 500 (вариант 2) определений при расходе 1,0 мл рабочего раствора реагентов на одно определение.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Мочевина под действием уреазы разлагается на углекислый газ и аммиак; аммиак при помощи глутаматдегидрогеназы переносится на α -кетоглутарат с образованием глутамата, при этом происходит окисление НАДН в НАД. Скорость окисления пропорциональна концентрации мочевины в анализируемой пробе и определяется по скорости изменения оптической плотности реакционной смеси при длине волны 340 нм.

2.2. Состав набора

Набор может поставляться в двух вариантах комплектации (вариант 1 и 2).

В состав набора входят:

– реагент 1: буферный раствор, pH $7,4 \pm 0,2$, содержащий трис-HCl, 100 ммоль/л; α -кетоглутарат, 12 ммоль/л; аденозиндифосфат, 3 ммоль/л; уреазу, 50000 Е/л; глутаматдегидро-

Инструкция составлена сотрудниками ЗАО «Вектор-Бест»: нач. отдела биохимии, к.б.н. Л.В. Гаевой и зам. начальника отдела биохимии, к.б.н. Г.Е. Яковлевой.

геназу, 1500 Е/л – 2 флакона (по 80 мл) (вариант 1) или 2 флакона (по 200 мл) (вариант 2);

– реагент 2: буфер натрий карбонатный, 5 ммоль/л, рН 9,0±0,2; никотинамидадениндинуклеотид, 1,5 ммоль/л – 2 флакона (по 20 мл) (вариант 1) или 2 флакона (по 50 мл) (вариант 2);

– калибратор: калибровочный раствор мочевины, 8,33 ммоль/л, в бензойной кислоте, 0,2%; готовый к использованию – 1 флакон (3,0 мл) (вариант 1) или 2 флакона (по 3,0 мл) (вариант 2).

Конечные концентрации компонентов в рабочем растворе реагентов:

- буфер трис-НСl, рН 7,5±0,2 – 80 ммоль/л;
- α-кетоглутарат – 9,6 ммоль/л;
- АДФ – 2,4 ммоль/л;
- уреаза – 40000 Е/л;
- глутаматдегидрогеназа – 1200 Е/л;
- НАДН – 0,3 ммоль/л.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Линейность. Линейная область определения концентрации мочевины – в диапазоне от 2,00 до 50,00 ммоль/л. Отклонение от «линейности» - не более 5%.

3.2. Чувствительность определения – не более 1,50 ммоль/л.

3.3. Коэффициент вариации результатов определений – не более 5%.

3.4. Нормальные величины концентрации мочевины:

- в сыворотке крови – 2,50-8,32 ммоль/л;
- в суточной моче – 333-583 ммоль/сут.

3.5. Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить диапазон нормальных величин концентрации мочевины у обследуемого контингента людей.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 1.

4.2. Реагент 1 содержит белки-ферменты, которые могут вызывать аллергические реакции, поэтому необходимо проявлять осторожность при работе. В случае попадания реагента 1 на кожу и слизистые необходимо промыть поражённые участки большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с набором необходимо соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противозидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических уч-

реждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы сыворотки крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусных инфекций.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- Полуавтоматический или автоматический биохимический анализатор, длина волны 340 нм, термостатируемая кювета с длиной оптического пути 10 мм;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости 10 и 1000 мкл;
- пробирки стеклянные вместимостью 5,0-10 мл;
- термостат, поддерживающий температуру $+37 \pm 0,5$ °C;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- секундомер;
- вода дистиллированная.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка, плазма крови, моча человека.

Образцы сыворотки и плазмы крови можно хранить при комнатной температуре ($+18-25$ °C) не более 3 сут, при температуре $+2-8$ °C не более 7 сут или при температуре минус 20 °C и ниже не более 3 мес.

Мочу перед анализом развести в стеклянной посуде дистиллированной водой в 50 раз.

Разведенные образцы мочи можно хранить при комнатной температуре не более 12 ч.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Приготовление рабочего раствора реагентов.

Объединить реагент 1 с реагентом 2 в соотношении 4:1 и тщательно перемешать.

Приготовленный рабочий раствор реагентов можно хранить в плотно закрытом виде при температуре $+2-8$ °C не более 1 мес.

7.2. Перед началом работы рабочий раствор реагентов нагреть до температуры $+37$ °C. При измерении оптической плотности постоянно поддерживать температуру $+37 \pm 0,2$ °C.

7.3. Компоненты реакционной смеси отобрать в количествах указанных в таблице, внести в термостатируемую кювету фотометра, поддерживающую температуру $+37 \pm 0,2$ °C, перемешать, включить секундомер и инкубировать.

Таблица

Отмерить, мкл	Опытная проба	Калибровочная проба
Рабочий раствор реагентов	1000	1000
Сыворотка, плазма крови, разведенная моча	10	—
Калибратор	—	10

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. Через 30 сек после начала инкубации измерить оптическую плотность растворов опытной и калибровочной проб против дистиллированной воды при длине волны 340 нм.

Измерения оптической плотности повторить через 60 сек.

8.2. При использовании автоматических биохимических анализаторов анализ проводится согласно загрузочному листу.

9. РАСЧЕТЫ

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

$$C = \frac{\Delta E}{\Delta E_k} \times C_k,$$

где: C – концентрация мочевины, ммоль/л;

ΔE – разность оптических плотностей первого и второго измерения опытной пробы, ед. опт. плотн.;

ΔE_k – разность оптических плотностей первого и второго измерения калибровочной пробы, ед. опт. плотн.;

C_k – концентрация мочевины в калибраторе, ммоль/л.

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

$$M = \frac{\Delta E}{\Delta E_k} \times C_k \times 50 \times V,$$

где: ΔE – разность оптических плотностей первого и второго измерения опытной пробы, ед. опт. плотн.;

ΔE_k – разность оптических плотностей первого и второго измерения калибровочной пробы, ед. опт. плотн.;

C_k – концентрация мочевины в калибраторе, ммоль/л;

V – количество мочи, собранное за сутки, л/сут;

50 – коэффициент разбавления мочи.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор реагентов **МОЧЕВИНА-УФ-НОВО жидкая форма** должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности (1 год). Допускается хранение наборов при температуре до $+25^{\circ}\text{C}$ не более 14 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.2. Рабочий раствор реагентов можно хранить в плотно закрытом виде при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более 1 мес.

10.3. Калнбратор после вскрытия флакона можно хранить в плотно закрытом виде при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более 3 мес.

10.4. Для проведения анализа использовать негемолизированную сыворотку, плазму крови, разбавленную мочу.

10.5. Образцы сыворотки, плазмы крови можно хранить при комнатной температуре ($+18-25^{\circ}\text{C}$) не более 3 сут, при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более 7 сут или при температуре минус 20°C и ниже не более 3 мес.

10.6. Разведенные образцы мочи можно хранить при комнатной температуре не более 12 ч.

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

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

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

По вопросам, касающимся качества набора **МОЧЕВИНА-УФ-НОВО жидкая форма**, следует обращаться в ЗАО «Вектор-Бест» по адресу:

630559, Новосибирская область, Новосибирский район, п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 227-67-64, 227-75-50, тел./факс (383) 336-73-46

Зам. начальника отдела биохимии, к.б.н.

Г.Е. Яковлева

Начальник отдела биохимии

ЗАО «Вектор-Бест», к.б.н.

Л.В. Гаева

Проректор ГОУ ВПО НГМУ Росздрава
по лечебной работе, д.м.н., профессор
м.п.



Е.Л. Потеряева

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью
5 листов

Сборка