

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 200__ г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ЗАО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

200__ г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для ферментативного определения
мочевины в сыворотке крови и моче
(МОЧЕВИНА-НОВО)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов МОЧЕВИНА-НОВО предназначен для определения количественного содержания мочевины в сыворотке крови и моче человека ферментативным методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

1.2. Набор рассчитан, в зависимости от варианта комплектации, на проведение 100 определений (вариант 1), 200 определений (вариант 2) или 400 определений (вариант 3) при расходе 1,0 мл рабочего раствора реагентов на одно определение.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Метод определения основан на том, что мочевина под действием уреазы разлагается на углекислый газ и аммиак; последний в реакции с натрием салициловокислым и натрием гипохлоритом в присутствии натрия пентацианонитрозилферрата (II) образует окрашенный продукт, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации мочевины в анализируемой пробе и измеряется фотометрически при длине волны 578 (546-580) нм.

2.2. Состав набора

Набор может поставляться в трех вариантах комплектации.

В состав набора входят:

– реагент 1: фосфатный буферный раствор, 35 ммоль/л, pH 6,7±0,2, содержащий уре-

Инструкция составлена сотрудниками ЗАО «Вектор-Бест»: нач. отдела, к.б.н.

Л.В. Гаевой, зам. начальника отдела биохимии Г.Е. Яковлевой.

ЭЛЕКТРОННАЯ КОПИЯ ОФОРМЛЕНА ЦЕНТРОМ ИСПЫТАНИЙ И РЕГИСТРАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

Утверждено 23.08.07г.

зу, 3500 Е/мл; глицерин, 50% – 1 флакон (1,0 мл) (вариант 1), 1 флакон (2,0 мл) (вариант 2) или 2 флакона (по 2,0 мл) (вариант 3);

– реагент 2: фосфатный буферный раствор, 35 ммоль/л, рН $6,7 \pm 0,2$, содержащий натрий салициловокислый, 80 ммоль/л; натрия пентацианонитрозилферрат (II) 2-водный, 5,2 ммоль/л – 1 флакон (100 мл) (вариант 1), 1 флакон (200 мл) (вариант 2) или 2 флакона (по 200 мл) (вариант 3);

– реагент 3: раствор натрия гипохлорита, 0,075 моль/л и натрия гидроокиси, 0,56 моль/л; готовый к использованию – 1 флакон (20 мл) (вариант 1), 1 флакон (40 мл) (вариант 2) или 2 флакона (по 40 мл) (вариант 3);

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

Конечные концентрации реагентов в рабочих растворах:

- фосфатный буфер – 0,035 ммоль/мл;
- уреаза – 35,0 Е/мл;
- натрий салициловокислый – 0,08 ммоль/мл;
- натрия пентацианонитрозилферрат (II) 2-водный – 0,005 ммоль/мл;
- натрия гипохлорит – 12,5 ммоль/мл;
- натрия гидроокись – 93,3 ммоль/мл.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Линейность. Линейная область определения концентрации мочевины – в диапазоне от 2,00 до 33,30 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. Рекомендуются в каждой лаборатории при использовании набора уточнить диапазон нормальных величин концентрации мочевины у исследуемого контингента людей.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

4.2 Реагент 3 содержит натрия гидроокись и натрия гипохлорит. Следует избегать попадания реагента 3 на кожу и слизистые. В случае попадания его на кожу и слизистые обо-

лочки необходимо промыть поражённые участки большим количеством проточной воды.

4.3. 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.).

4.4. 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:

- Спектрофотометр, длина волны 578 нм, или фотозлектроколориметр, длина волны 546-580 нм, кювета с длиной оптического пути 10 мм;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости 10, 200 и 1000 мкл;
- пробирки стеклянные вместимостью 5-10 мл;
- термостат, поддерживающий температуру $+37 \pm 0,5$ °C;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- секундомер;
- вода дистиллированная.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка крови, моча человека.

Образцы сыворотки крови можно хранить при комнатной температуре ($+18-25$ °C) не более 1 сут, при температуре $+2-8$ °C – не более 3 сут или при температуре минус 20 °C и ниже – не более 3 мес. Повторное размораживание образцов сыворотки крови не рекомендуется.

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

Содержимое флакона с реагентом 1 количественно перенести во флакон с реагентом 2, перемешать, закрыв флакон той же пробкой, не допуская вспенивания.

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

7.2. Рабочий раствор реагентов (см п. 7.1) разлить в пробирки и перед добавлением пробы выдержать в течение 5 мин при температуре +37±0,5 °С.

7.3. Компоненты реакционной смеси отобрать в количествах указанных в таблице.

Таблица

Отмерить, мл	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Сыворотка крови, разведенная моча	0,01	—	—
Вода дистиллированная	—	—	0,01
Калибратор	—	0,01	—
Рабочий раствор реагентов	1,00	1,00	1,00
Пробу перемешать и выдержать в течение 5 мин при температуре +37±0,5 °С			
Реагент 3	0,20	0,20	0,20

После добавления реагента 3 пробы тотчас перемешать и выдержать в течение 5 мин при температуре +37±0,5 °С. Пробы окрашиваются в зеленый цвет.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. Измерить оптическую плотность растворов опытной и калибровочной проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 578 (546-580) нм. Окраска раствора устойчива в течение 1 ч.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Расчеты

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

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

где: C – концентрация мочевины, ммоль/л;

E – оптическая плотность анализируемой пробы, ед. опт. плотн.;

E_k – оптическая плотность калибровочной пробы, ед. опт. плотн.;

C_k – концентрация мочевины в калибраторе, ммоль/л.

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

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

где: E – оптическая плотность анализируемой пробы, ед. опт. плотн.;

E_k – оптическая плотность 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-НОВО должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре $+2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности (1 год). Допускается хранение наборов при температуре до $+25\text{ }^{\circ}\text{C}$ не более 10 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

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

10.3. Реагент 3 после вскрытия флакона можно хранить в плотно закрытом виде при температуре $+2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ не более 1 мес.

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

10.5. Для проведения анализа использовать негемолизированную сыворотку крови.

10.6. Образцы сыворотки крови можно хранить при комнатной температуре ($+18-25\text{ }^{\circ}\text{C}$) не более 1 сут, при температуре $+2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ – не более 3 сут или при температуре минус $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ и ниже – не более 3 мес.

Повторное размораживание образцов сыворотки крови не рекомендуется.

10.7. Образцы мочи можно хранить при температуре $+2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ не более 3 сут.

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

10.9. 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.

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

По вопросам, касающимся качества набора МОЧЕВИНА-НОВО, 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

и в Институт стандартизации и контроля лекарственных средств ФГУ «НЦ ЭСМП»

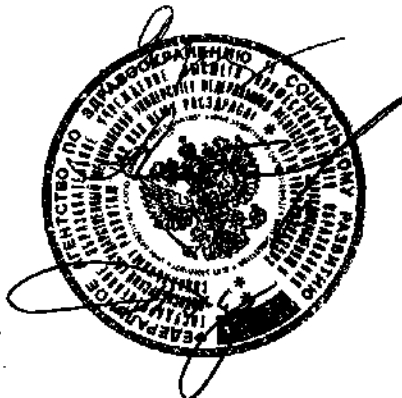
Росздравнадзора по адресу:

117246, Москва, Научный проезд, д. 14А, тел. (495) 120-60-95; 120-60-96.

Зам. начальника отдела биохимии

Проректор по ПДО НГМУ,
профессор

Генеральный директор
ЗАО «Вектор-Бест»



Г.Е. Яковлева

Е.Г. Кондюрина

М.Д. Хусаинов