



HOSPITEX DIAGNOSTICS

лабораторное оборудование и реагенты

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 20 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный Директор ООО «Хоспитекс Диагностика»

К.А. Константинов

3 августа 2009 г.

М.п.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения концентрации мочевины

ПРИНЦИП МЕТОДА

Мочевина под воздействием уреазы превращается в аммиак и углекислоту. Аммиак, взаимодействуя с α -кетоглутаровой кислотой при участии глутаматдегидрогеназы (ГЛДГ), окисляет восстановленный никотинадениндинуклеотид, оптическая плотность которого при 340 нм уменьшается пропорционально содержанию мочевины.

СОСТАВ НАБОРА

Реагент R1: (4x40 мл, 8x40 мл)

Трис буфер, pH 7,8.....95 ммоль/л

АДФ.....1,2 ммоль/л

α -кетоглутарат.....7,5 ммоль/л

Уреаза..... ≥ 8000 Ед/л

ГЛДГ..... ≥ 800 Ед/л

Азид натрия.....0,095%

Реагент R2: (4x10 мл, 8x10 мл)

НАДН.....0,25 ммоль/л

Азид натрия.....0,095%

Реагент 3: Калибратор (1x2 мл, 1x4 мл)

Мочевина.....8,66 ммоль/л

Азид натрия.....0,095%

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Набор обеспечивает линейную область определения концентрации мочевины в диапазоне от 2 до 50 ммоль/л, отклонение от линейности не превышает 5%. Чувствительность не более 1 ммоль/л, коэффициент вариации результатов определения – не более 3%.

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

Нормальные величины концентрации мочевины в сыворотке крови составляют 2,5 – 8,3 ммоль/л, в моче 330 – 580 ммоль/сутки.

Рекомендуется в каждой лаборатории установить свой диапазон нормальных величин.

ОБРАЗЦЫ

Моча или негемолизованный сыворотка. Сыворотку крови следует отделить от форменных элементов крови не позднее, чем через 1 час после забора крови. Мочевина в сыворотке стабильна до 24 часов при комнатной температуре и в течение нескольких дней при 2-8 °С, или 2-3 месяца при -20 °С.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Реагенты R1, R2 и калибратор содержат азид натрия. Не допускать попадания на кожу и слизистые. 2. Обычные меры предосторожности, принимаемые при работе с лабораторными реактивами. Не пипетировать ртом; при проглатывании следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

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, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

- спектрофотометр или фотоэлектроколориметр, длина волны 340 нм, кювета с длиной оптического пути 1 см;

- секундомер;

- пипетки, позволяющие отбирать объемы 10 и 1000 мкл;

- коническая колба вместимостью 100 мл;

- вода дистиллированная;

- 0,9% раствор NaCl (физиологический раствор).



HOSPITEX DIAGNOSTICS

лабораторное оборудование и реагенты

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Приготовление рабочего реагента: смешать в конической колбе вместимостью 100 мл 4 объема реагента R1 и 1 объем реагента R2. Тщательно закрыть флаконы с реагентами R1 и R2 непосредственно после каждого использования.

Рабочий реагент стабилен в течение 2 недель при хранении при температуре 2-8 °С

	Холостая проба, бланк (мкл)	Калибровочная проба (мкл)	Опытная проба(мкл)
Реагент 1	1000	1000	1000
Сыворотка или плазма крови	-	-	10
Калибратор	-	10	-
Вода дистиллированная	10	-	-

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

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

Пробирки с рабочим реагентом необходимо предварительно прогреть в течение 3 минут при 37°С.

Перемешать, через 30 сек. преинкубации измерить оптическую плотность A1 и точно через 60 секунд (время реакции) измерить оптическую плотность A2.

Рассчитать дельту оптической плотности $\Delta A = A2 - A1$.

РАСЧЕТ

Содержание мочевины в сыворотке или плазме крови определить по формуле:

$$C = \frac{\Delta A_{\text{пробы}}}{\Delta A_{\text{калибратора}}} \times 8,66, \text{ где}$$

C – концентрация мочевины в анализируемой пробе, ммоль/л;

$\Delta A_{\text{пробы}}$ – оптическая плотность анализируемой пробы, ед. опт. пл.;

$\Delta A_{\text{калибратора}}$ – оптическая плотность калибратора, ед. опт. пл.;

8,66 – содержание мочевины в калибраторе, ммоль/л.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Хранение наборов должно производиться в темном месте при температуре + 2-8 °С в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Замораживание компонентов набора не допускается.

Срок годности набора – 24 месяца.

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов могут храниться при температуре +2-8 °С в темном месте в течение всего срока годности наборов при условии достаточной герметичности флаконов.

Рабочий реагент необходимо хранить при температуре +2-8 °С в течение 2 недель в защищенном от света месте.

При содержании мочевины в сыворотке крови выше 50 ммоль/л анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором и полученный результат умножить на разведение.

Для получения надежных результатов необходимо строго соблюдать инструкцию по применению набора.

По всем вопросам касающимся набора следует обращаться в ООО «Хоспитекс Диагностика» по адресу: 121552, г. Москва, а/я 43, тел/факс (495) 646-0505

Начальник производства

М.Е.Мещерский

Главный врач ФГУ РКНПК Росмедтехнологий

В.К.Ситина



