



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения содержания мочевины
в биологических жидкостях колориметрическим методом
на основе реакции с диацетилмонооксимом.

(МОЧЕВИНА-1-ОЛЬВЕКС)

Назначение

Набор «МОЧЕВИНА-1-ОЛЬВЕКС» предназначен для количественного определения содержания мочевины в сыворотке или плазме крови человека и моче колориметрическим методом на основе реакции с диацетилмонооксимом в клинической лабораторной диагностике.

Согласно стандартной процедуре анализа набор рассчитан на проведение 400 определений при конечном объеме фотометрируемой пробы 2,01 мл.

Принцип метода

Мочевина образует с диацетилмонооксимом, в присутствии тиосемикарбазида и трехвалентного железа, окрашенные соединения, интенсивность окраски которых пропорциональна концентрации мочевины в анализируемой пробе и регистрируется фотометрически при длине волны 540 (530-560) нм.

Состав набора

В состав набора реагентов входят следующие компоненты:

- реагент 1 (раствор диацетилмонооксима), 40 ммоль/л; готов к применению - 1 флакон (100 мл);
- реагент 2 (раствор серной кислоты), 2,88 моль/л; готов к применению - 1 флакон (250 мл);
- реагент 3 (раствор тиосемикарбазида), 38,4 ммоль/л; готов к применению - 1 флакон (25 мл);
- реагент 4 (раствор железа хлорного), 5 ммоль/л; готов к применению - 1 флакон (5,0 мл);
- калибратор, содержащий мочевины, 8,33 ммоль/л; азид натрия, 0,5 г/л, готов к применению - 1 флакон (5,0 мл).

Аналитические характеристики

Линейная область определения концентрации мочевины - в диапазоне от 1,0 до 20 ммоль/л, отклонение от "линейности" - не более 5%.

Чувствительность определения - не более 0,5 ммоль/л.

Коэффициент вариации результатов определений - не более 5%.

Качество набора может проверяться при помощи отечественных или зарубежных контрольных сывороток, аттестованных данным методом.

Для контроля правильности и воспроизводимости результата лабораторного анализа рекомендуется использовать контрольные сыворотки с аттестованным по данному методу показателем.

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

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

Анализируемые образцы

Свежая негемолизованная сыворотка или плазма крови. Не использовать в качестве антикоагулянта оксалат натрия.

Моча, разведенная в 25 -100 раз 0,9 % раствором NaCl, (не забудьте результат анализа умножить на разведение). Пробы стабильны 4 дня при температуре +2-8 °С.

Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

В состав набора входит азид натрия и серная кислота. При работе с набором следует не допускать их попадания на кожу и слизистые; при попадании необходимо промыть пораженное место большим количеством проточной воды.

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.).

При работе с набором следует использовать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы сыворотки или плазмы крови человека, а также мочи являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять или передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель инфекции.

Твердые и жидкие отходы, образующиеся в результате использования набора реагентов относятся к классу Б согласно СанПин 2.1.7.2790-10. «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

Для обеззараживания и(или) обезвреживания отходов использовать зарегистрированные в РФ дезинфектанты и оборудование в соответствии с инструкциями по их применению (МУ 287-113. «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского применения»).

Оборудование, материалы и реагенты:

- Спектрофотометр, длина волны 540 нм или фотоэлектроколориметр, длина волны 530-560 нм, кювета с длиной оптического пути 1,0 см;
- баня водяная лабораторная типа БКЛ, позволяющая производить нагревание воды до температуры 100°C;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,01 мл; 2,0 мл;
- пробирки стеклянные химические вместимостью 5,0-10 мл;
- секундомер;

- 0,9% раствор хлорида натрия (физиологический раствор);
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

Примечание. Для проведения анализа рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки со сменяемыми наконечниками, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов дозирования.

Подготовка реагентов к процедуре анализа

Рабочий реагент. Смешивают реагенты в следующей последовательности:

№1 - 10 мл, №2 - 25 мл, №3 - 2,0 мл и №4 - 0,4 мл; немедленно добавляют 43 мл дистиллированной воды и перемешивают. Рабочий реагент стабилен не менее 8 часов при комнатной температуре (+18-25 °C). Можно смешивать кратные объемы реагентов, не меняя их соотношения.

Проведение анализа

Подготовить пробы в соответствии с таблицей.

Таблица

Компоненты реакционной среды	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Рабочий реагент, мл	2,0	2,0	2,0
Образец, мл	0,01	-	-
Калибратор, мл	-	0,01	-
Вода дистиллированная, мл	-	-	0,01

Пробы тщательно перемешивают, закрывают пробирки колпачками из фольги или стеклянными каплями и инкубируют точно 10 минут на кипящей водяной бане.

После окончания инкубации пробы охлаждают под проточной водой. Измеряют оптическую плотность опытной и калибровочной проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 540 (530 - 560) нм в кювете с длиной оптического пути 1,0 см.

Окраска раствора стабильна 15 минут после окончания инкубации.

Расчеты

Концентрацию мочевины в биологических жидкостях рассчитать по формуле:

1. Сыворотка или плазма крови (С, ммоль/л):

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

2. Моча (С, ммоль/сутки)

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

где: E_{np} – оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. плотн.;

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

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

V - суточный диурез, л,

K – коэффициент разведения мочи = 25 - 100.

ОБРАТИТЕ ВНИМАНИЕ:

1. Водяная баня должна быть интенсивно кипящей.
2. Не нарушайте последовательность смешивания реагентов при приготовлении рабочего реагента; воду необходимо добавлять немедленно; рабочий реагент не должен иметь желтоватой окраски.
3. При определении мочевины в липимичных или гемолизированных сыворотках пробу можно депротеинизировать 5% раствором трихлоруксусной кислоты: 0,1 мл сыворотки + 1,0 мл ТХУ и центрифугировать; так же готовить калибратор. Для анализа использовать 0,1 мл надосадочной жидкости.

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 - 24 месяца.

Реагенты 1, 2, 3, 4 и калибратор после вскрытия флакона стабильны не менее 6 месяцев при условии достаточной герметизации флакона и хранении в защищенном от света месте при комнатной температуре.

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

Гарантии изготовителя

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора требованиям технических условий ТУ 9398-083-44276594-2014 «Набор реагентов для определения содержания мочевины в биологических жидкостях колориметрическим методом на основе реакции с диацетилмонооксидом «МОЧЕВИНА-1-ОЛЬВЕКС», ТУ 9398-083-44276594-2014.

При соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных настоящими техническими условиями срок годности набора - 24 месяца со дня приемки ОТК предприятия-изготовителя.

По вопросам, касающимся качества набора «МОЧЕВИНА-1-ОЛЬВЕКС», следует обращаться в ООО «ОЛЬВЕКС ДИАГНОСТИКУМ» по адресу:

199155, г. Санкт-Петербург, пер. Декабристов, д. 5/17, пом. 1. Тел: (812) 412-84-46, (812) 412-83-02; Факс: (812) 412-84-29.

Директор по науке

ООО «ОЛЬВЕКС ДИАГНОСТИКУМ»

Юшин К.В.

«Согласовано»

Заведующий кафедрой клинической
лабораторной диагностики ГБОУ ДПО

РМАПО Минздрава России

д.м.н., профессор



Долгов В.В.

Пронумеровано и прошнуровано
в количестве **6 (шесть)**

листов

Генеральный директор

О.В. Толстова

