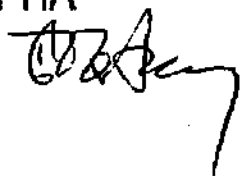
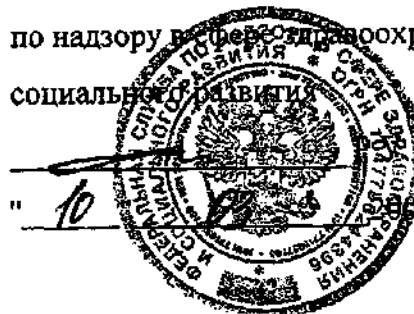


КОПИЯ ВЕРНА



УТВЕРЖДАЮ

Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере здравоохранения и
социального обеспечения



Кабриев

" 10 " 2015 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения концентрации
мочевины в биологических жидкостях уреазным фенол-гипохлоритным методом
(МОЧЕВИНА-2-ОЛЬВЕКС)

Рекомендована к утверждению экспертной комиссией
по лабораторным реагентам

Назначение

Набор МОЧЕВИНА-2-ОЛЬВЕКС предназначен для количественного определения содержания мочевины в сыворотке крови и моче человека уреазным фенол-гипохлоритным методом в клинико-диагностических лабораториях и в научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 100 или 200 определений при расходе по 1,0 мл реагента 2 и реагента 3 на один анализ.

Инструкция составлена директором по науке ООО «Ольвекс Диагностикум», к.б.н. З.А.Тупиковой и заведующим кафедрой клинической лабораторной диагностики СПб МАПО, д.м.н., профессором А.В.Козловым.

Принцип метода

Мочевина под действием уреазы гидролизуетея с образованием двуокиси углерода и аммиака, содержание которого определяется в реакции с гипохлоритом и фенолом. Интенсивность окраски образующегося комплекса пропорциональна концентрации мочевины в анализируемом образце и измеряется при длине волны 540 (520-560) нм.

Состав набора

В состав набора реагентов входят следующие компоненты:

- реагент 1 (стабилизированный раствор уреазы), содержащий фосфорную кислоту, 50 ммоль/л; азид натрия, 0,25 г/л; уреазу, 30 000 Е/л; гидроокись натрия 0,1 ммоль/л до pH 7,0; готов к применению – 1 флакон (10 мл) или 1 флакон (20 мл);
- реагент 2 (фенол-нитропруссид), содержащий фенол, 106 ммоль/л; нитропруссид натрия, 170 ммоль/л; готов к применению – 1 флакон (100 мл) или 1 флакон (200 мл);
- реагент 3 (гипохлорит), содержащий гипохлорит натрия с концентрацией 130 г/л, 5,4 мл/л; гидроокись натрия, 125 ммоль/л; готов к применению – 1 флакон (100 мл) или 1 флакон (200 мл);
- калибратор, содержащий мочевины, 5,0 ммоль/л; азид натрия, 0,5 г/л; готов к применению - 1 флакон (2,0 мл) или 1 флакон (4,0 мл).

Аналитические характеристики

Линейная область определения концентрации мочевины - в диапазоне от 1,0 до 25 ммоль/л, отклонение от линейности - не более 5%.

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

Коэффициент вариации результатов определений - не более 5%.

Окраска стабильна не менее 1 часа.

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

Нормальные величины содержания мочевины в сыворотке крови человека колеблется в пределах от 2,5 до 8,3 ммоль/л, в моче от 330 до 580 ммоль/сутки.

Анализируемые образцы

Сыворотка крови без следов гемолиза. Моча, разведенная дистиллированной водой в 100 раз.

Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 1.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

В состав компонентов набора входят азид натрия, фенол, гидроокись натрия и фосфорная кислота. Следует избегать их попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При попадании внутрь следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

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 крови человека являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Оборудование, материалы и реагенты:

- Спектрофотометр, длина волны 540 нм, или фотоэлектроколориметр, длина волны 520-560 нм, кюветы с длиной оптического пути 0,5 или 1,0 см;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,01 мл; 0,1 мл и 1,0 мл;
- пробирки стеклянные химические вместимостью 5,0-10 мл;
- вода дистиллированная;
- термостат водяной, поддерживающий температуру $+37 \pm 1^\circ\text{C}$;
- перчатки резиновые или пластиковые.

Подготовка к анализу

Все реагенты готовы к использованию.

Проведение анализа

Подготовить пробы в соответствии с таблицей.

Таблица

Компоненты реакционной среды	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Реагент 1, мл	0,1	0,1	0,1
Сыворотка крови, моча, мл	0,01	-	-
Калибратор, мл	-	0,01	-
Вода дистиллированная, мл	-	-	0,01

Пробы тщательно перемешать и инкубировать в течение 10 минут при комнатной температуре (+18 -25°C). После окончания инкубации во все пробы добавить по 1,0 мл реагента 2 и по 1,0 мл реагента 3, после чего инкубировать пробы в течение 15 минут при температуре +37°C. Измерить оптическую плотность опытной и калибровочной проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 540 (520-560) нм. Интенсивность окраски стабильна в течение 1 часа.

Расчеты

Концентрацию мочевины рассчитать по формуле:
в сыворотке крови (С, ммоль/л):

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

где: $E_{оп}$ - оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. плотн.;

$E_{кал}$ - оптическая плотность калибратора, ед. опт. плотн.;

5,0 - концентрация мочевины в калибраторе, ммоль/л.

в суточной моче (С, ммоль/сутки):

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

где: $E_{пр}$ - оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. плотн.;

$E_{кал}$ - оптическая плотность калибратора, ед. опт. плотн.;

5,0 - концентрация мочевины в калибраторе, ммоль/л;

100 - разведение мочи;

V - суточный диурез, л.

Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя в темном месте при температуре +2-8°C в течение всего срока годности. Замораживание компонентов набора не допускается.

Срок годности набора - 6 месяцев.

Реагенты 1, 2, 3 и калибратор после вскрытия флаконов можно хранить в темном месте в плотно закрытом флаконе при температуре +2-8°C в течение всего срока годности.

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

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

По вопросам, касающимся качества набора МОЧЕВИНА-2-ОЛЬВЕКС, следует обращаться в ООО «Ольвекс Диагностика» по адресу:

195197, г. Санкт-Петербург, пр. Обуховской обороны, 70.

Тел: (812) 567-84-46, (812) 567-83-02;

Факс: (812) 567-84-29

и в Институт государственного контроля лекарственных средств ФГУ «НЦ ЭСМП» Минздрава РФ по адресу:

117246, г. Москва, Научный проезд, д. 14 А.

Тел: (095) 120-60-95, 120-60-96.

Директор по науке

ООО «Ольвекс Диагностикум»



З.А.Тупикова

Заведующий кафедрой клинической
лабораторной диагностики СПбМАПО,
д.м.н., профессор



А.В.Козлов