

УТВЕРЖДЕНА

«УТВЕРЖДАЮ»

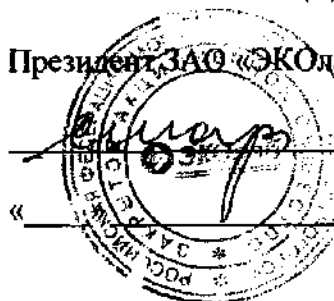
Приказом Росздравнадзора

Президент ЗАО «ЭКОлаб»

от _____ 2010 г. № _____

С. Г. Марданлы

« _____ » 2010 г.



**ИНСТРУКЦИЯ
ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ КЛИНИЧЕСКОГО
АНАЛИЗА МОЧИ**

(«Клиника-Уро»)

1. Назначение

Набор реагентов предназначен для определения pH, качественного определения глюкозы, кетонов, билирубина, уробилиноидов, качественного и количественного определения содержания белка в моче в клиничко-диагностических лабораториях.

Набор выпускается в семи вариантах комплектации.

Комплект 1 рассчитан на 1000 определений pH, белка, кетонов, уробилиноидов, 400 определений билирубина, 500 определений глюкозы и 330 определений содержания белка при расходе 3,0 мл 3 % раствора сульфосалициловой кислоты на один анализ.

Комплект 2 рассчитан на 5000 определений pH.

Комплект 3 рассчитан на 1000 качественных или 330 количественных определений белка по реакции с сульфосалициловой кислотой.

Комплект 4 рассчитан на 500 определений глюкозы.

Комплект 5 рассчитан на 2500 определений кетоновых тел.

Комплект 6 рассчитан на 400 определений билирубина.

Комплект 7 рассчитан на 1000 определений уробилиноидов.

2. Характеристика набора

2.1. Принцип метода

Определение pH

pH мочи определяется по изменению цвета индикатора бромтимолового синего

Определение белка

Белок под действием сульфосалициловой кислоты коагулирует, что приводит к помутнению мочи. Интенсивность помутнения пропорциональна содержанию белка в моче и определяется фотометрически при длине волны 600 (590-650) нм.

Определение глюкозы, проба Гайнеса

Глюкоза при нагревании в щелочной среде восстанавливает гидрат окиси меди (синего цвета) в гидрат закиси меди (зеленого, желтого, оранжевого или коричневого цвета).

Определение кетонов

Кетоны в щелочной среде взаимодействуют с нитропруссидом натрия (реактив Лестраде) с образованием соединений красно-фиолетового цвета. Интенсивность окраски пропорциональна содержанию кетонов в моче.

Определение уробилиноидов

Уробилиноген при взаимодействии с п-диметиламинобензальдегидом (реактив Эрлиха) образует соединение красного цвета. Интенсивность окраски пропорциональна содержанию уробилиноидов.

Определение билирубина

Билирубин, после осаждения хлоридом бария, под действием треххлористого железа (реактив Фуше) превращается в зеленый биливердин. Интенсивность окраски пропорциональна содержанию билирубина.

2.2. Состав набора

- Бромтимоловый синий, 0,5 % – 1 флакон (20 мл).
- Кислота сульфосалициловая, 60 % – 1 флакон (100 мл).
- Калибровочный раствор белка – 1 флакон (10 мл).
- Реактив Гайнеса – 1 флакон (100 мл).
- Реактив Лестраде – 1 флакон (20 г).
- Реактив Эрлиха – 1 флакон (100 мл)
- Реактив Фуше – 1 флакон (50 мл).
- Барий хлористый – 2 н/э пакета (по 150 г).

3. Аналитические и диагностические характеристики набора

рН мочи.

Границы изменения окраски индикатора лежат в диапазоне значений рН 5,0-9,0.

Норма: рН мочи здорового человека колеблется в пределах 5,5-7,0.

Белок общий

Линейная область определения – в диапазоне от 0,1 г/л до 1,0 г/л, отклонение – не более 10 %.

Чувствительность – не более 0,05 г/л.

Коэффициент вариации результатов определения – не более 10 %.

Норма: до 0,02 г/л

Глюкоза

Норма: до 0,8 ммоль/л

Кетоновые тела

Норма: отсутствуют или следы

Уробилиноиды

Нижний предел определения уробилиноидов составляет 3,0 ммоль/л.

Норма: отсутствуют или следы

Билирубин

Норма: отсутствуют или следы

4. Меры предосторожности при работе с набором

Потенциальный риск применения набора – класс 1.

В состав набора входят кислоты: сульфосалициловая 2-водная, трихлоруксусная, соляная; токсичные вещества; бромтимоловый синий, п-диметиламинобензальдегид; ядовитые вещества: барий хлористый, натрий нитропруссидный; едкие вещества: натрия гидроокись, медь сернокислая, натрий углекислый безводный, железа (III) хлорид 6-водный. При работе с ними следует соблюдать осторожность и не допускать попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

Меры предосторожности – соблюдение "Правил 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.)

5. Оборудование, материалы и реагенты:

- фотометрическое оборудование, длина волны 600 (590-650) нм, кювета с длиной оптического пути 1,0 см;
- таймер или секундомер;
- колбы конические вместимостью 100 мл, 200 мл, 500 мл;
- цилиндры мерные вместимостью 50 мл и 100 мл;
- колба мерная вместимостью 1000 мл;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости от 0,5 до 5,00 мл;
- пробирки стеклянные вместимостью 10 мл, 20 мл;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- чашки Петри;

- водяная баня;
- раствор натрия хлористого (9 г/л NaCl);
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

6. Анализируемые пробы

Свежая моча

7. Проведение анализа

7.1. Приготовление рабочих растворов реагентов

7.1.1. Рабочий раствор бромтимолового синего.

Бромтимоловый синий, 0,5 % разбавить водой дистиллированной в соотношении 1:4.

Рабочий раствор бромтимолового синего можно хранить при комнатной температуре (18-25) °C в защищённом от света месте в плотно закрытом флаконе не более 6 месяцев.

7.1.2. Рабочий раствор сульфосалициловой кислоты, 20 %

В колбу коническую вместимостью 200 мл внести 50 мл раствора сульфосалициловой кислоты, 60 %, добавить 100 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать, перенести во флакон из темного стекла.

Рабочий раствор кислоты сульфосалициловой, 20 % можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытом флаконе, в защищенном от света месте в течение года.

7.1.3 Рабочий раствор сульфосалициловой кислоты, 3 %

В мерную колбу вместимостью 1,0 л внести 50 мл раствора сульфосалициловой кислоты, 60 % и довести объём раствора до метки водой дистиллированной.

Рабочий раствор кислоты сульфосалициловой, 3,0 % можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытом флаконе, в защищенном от света месте в течение года.

7.1.4. Калибровочный раствор белка, 1,0 г/л

Готов к применению.

После вскрытия флакона калибровочный раствор белка можно хранить при температуре (2-8) °C в плотно закрытом флаконе не более 6 мес.

7.1.5. Рабочий раствор реактива Гайнеса

Реактив Гайнеса разбавить водой дистиллированной в соотношении 1:4.

Рабочий раствор реактива Гайнеса можно хранить при комнатной температуре в защищённом от света месте не более 6 месяцев.

7.1.6. Реактив Лестраде

Готов к применению.

После вскрытия флакона реактив можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытом флаконе в течение года.

7.1.7 Реактив Эрлиха

Готов к применению.

После вскрытия флакона раствор можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытом флаконе в течение года.

7.1.8. Реактив Фуше

Готов к применению. Перед применением взболтать.

После вскрытия флакона реактив можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытом флаконе в течение года.

7.1.9. Рабочий раствор бария хлористого 15 %

Барий хлористый, 150 г внести в мерную колбу вместимостью 1 л, добавить 800 мл дистиллированной воды, тщательно перемешать до полного растворения, довести дистиллированной водой до метки и вновь тщательно перемешать.

Раствор бария хлористого 15 % можно хранить при комнатной температуре в течение года.

7.2. Проведение анализа

7.2.1. Определение pH

В пробирку внести 1,0-2,0 мл мочи добавить 1-2 капли рабочего раствора бромтимолового синего, перемешать.

7.2.2. Определение белка

7.2.2.1. Качественное определение

В две пробирки внести по 1,0-2,0 мл профильтрованной или центрифугированной мочи. В опытную пробирку добавить 2-3 капли 20 % раствора сульфосалициловой кислоты.

7.2.2.2. Количественное определение

Построение калибровочного графика

В 4 пробирки внести калибровочный раствор белка и раствор натрия хлористого, 9 г/л в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1

№ п/п	Объем калибровочного раствора белка, мл	Объем раствор натрия хлористого, 9 г/л, мл	Концентрация белка в растворе, г/л
1	0,50	4,50	0,1
2	1,00	4,00	0,2
3	2,50	2,50	0,5
4	5,00	0	1,0

Содержимое пробирок перемешать и провести анализ полученных разведений следующим образом.

Компоненты и анализируемые пробы отмерить в количествах, указанных в таблице 2.

Таблица 2

Отмерить, мл	Опытная проба	Контрольная (холостая) проба
Раствор белка	1,0	1,0
Раствор сульфосалициловой кислоты, 3 %	3,0	-
Раствор натрия хлористого, 9 г/л	-	3,0

Содержимое пробирок тщательно перемешать, выдержать при комнатной температуре (18-25) °С в течение 10 мин. Измерить оптическую плотность опытной пробы.

Построить калибровочный график, откладывая по оси ординат оптическую плотность опытных проб, а по оси абсцисс – соответствующие им значения концентраций белка, указанные в таблице 1.

Проведение анализа

Провести анализ проб мочи аналогично анализу растворов белка.

Примечание:

При стоянии опытных проб более 20 мин возможно уменьшение значений оптической плотности за счет оседания части преципитата. Непосредственно перед измерением пробирки с опытными пробами тщательно встряхнуть.

Результаты, получаемые данным методом, чувствительны к изменениям температуры. Рекомендуется производить измерения при комнатной температуре (18-25) °С.

7.2.3. Определение глюкозы

В пробирку внести 1,0 мл рабочего раствора реактива Гайнеса, добавить 6-8 капель мочи, перемешать и выдержать в кипящей водяной бане в течение 3 мин.

Примечание.

Моча больных диабетом должна исследоваться в первую очередь, т.к. ферменты бактерий и дрожжевых грибов частично или полностью разлагают глюкозу. То же самое наблюдается при бактериурии.

7.2.4. Определение кетонов

Нанести небольшое количество (на кончике ножа) реактива Лестраде на фильтровальную бумагу, добавить 2-3 капли анализируемой мочи и включить таймер или секундомер.

7.2.5. Определение уробилиноидов

В пробирку внести 1-2 мл свежевыпущенной мочи, охлажденной до комнатной температуры, добавить 1-2 капли реактива Эрлиха из расчета 1 капля реактива Эрлиха на 1 мл мочи, тщательно перемешать и включить таймер или секундомер.

Примечание.

Определению уробилиноидов может мешать билирубин, при обнаружении билирубина его следует предварительно удалить, осадив раствором хлористого бария 15 % (см п. определение билирубина).

7.2.6. Определение билирубина

В пробирку внести 10 мл мочи и 5 мл рабочего раствора бария хлористого 15 %, тщательно перемешать и профильтровать через фильтр. Затем фильтр поместить в чашку Петри и нанести на него 2 капли реактива Фуше.

Примечание.

Если реакция мочи щелочная, то необходимо подкислить ее несколькими каплями 30 % уксусной кислоты.

8. Регистрация результатов

При определении pH мочи, качественном определении белка, глюкозы, кетонов, билирубина, уробилиноидов результат регистрируют визуально.

При количественном определении белка:

Длина волны: 600 (590-650) нм;

Длина оптического пути: 1,0 см;

Температура анализа: комнатная (18-25) °С;

Измерение: против холостой пробы.

9. Учет результатов**9.1 Определение pH**

Окраска пробы мочи после добавления бромтимолового синего соответствует различному pH:

- желтый цвет - кислая реакция;
- бурый цвет - слабокислая реакция;
- травянистый цвет - нейтральная реакция;
- буровато-зеленый цвет - слабо щелочная реакция;
- зеленый и синий цвет - щелочная реакция.

9.2 Определение белка**Качественное.**

На темном фоне сравнить опытную пробу с контрольной пробой. Помутнение в опытной пробе указывает на наличие белка в моче.

Примечание.

Избыток 20 % раствора сульфосалициловой кислоты приводит к растворению белка, исчезновению помутнения.

Количественное.

Содержание белка в пробе определить по калибровочному графику. Для этого на оси ординат отметить оптическую плотность опытной пробы, а на оси абсцисс найти соответствующее ей значение концентрации белка.

Примечание:

Линейная зависимость сохраняется до концентрации белка 1,0 г/л. При более высоких концентрациях пробу развести в 2-3 раза, повторить определение и результат умножить на разведение.

9.3 Определение глюкозы

В присутствии глюкозы окраска опытной пробы с мочой после реакции становится зеленой, желтой, оранжевой, красной или коричневой, выпадает осадок. Синий цвет указывает на отсутствие глюкозы в моче.

9.4 Определение кетонов

Появление розоватого, сиреневого или темно-фиолетового окрашивания через 2 мин после начала реакции указывает на наличие в моче кетонов.

9.5 Определение уробилиноидов

Окрашивание мочи в красный цвет в течение первых 30 сек, после добавления реактива Эрлиха, указывает на повышенное содержание уробилиногенов. Отсутствие окраски или ее появление через 60 сек, после добавления реактива Эрлиха указывает, что концентрация уробилиногенов в моче в норме.

9.6 Определение билирубина

Появление на фильтре сине-зеленого, голубовато-изумрудного пятна свидетельствует о присутствии в моче билирубина.

10. Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре (2-8) °C в течение всего срока годности.

Срок годности набора – 1 год.

Все реактивы набора после вскрытия флаконов можно хранить при комнатной температуре (18-25) °C в плотно закрытых флаконах в течение всего срока годности набора.

Калибровочный раствор белка после вскрытия флакона хранить при температуре (2-8) °C в плотно закрытом флаконе не более 6 месяцев.

Рабочий раствор бромтимолового синего можно хранить при комнатной температуре в защищенном от света месте в плотно закрытом флаконе не более 6 месяцев.

Рабочий раствор сульфосалициловой кислоты 20 % можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытом флаконе в течение срока годности набора.

Рабочий раствор сульфосалициловой кислоты 3 % можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытом флаконе в течение срока годности набора.

Рабочий раствор реактива Гайнеса можно хранить при комнатной температуре в защищенном от света месте не более 6 месяцев.

Реактив Фуше после вскрытия флакона реактив можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытом флаконе в течение года.

Раствор бария хлористого 15 % можно хранить при комнатной температуре в течение года.

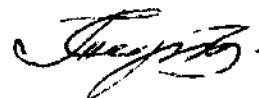
Реактив Эрлиха после вскрытия флакона раствор можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытом флаконе в течение года.

Реактив Лестраде после вскрытия флакона реактив можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытом флаконе в течение года.

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

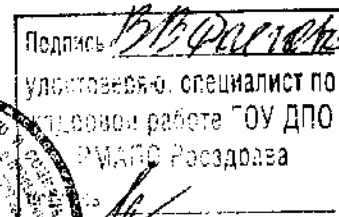
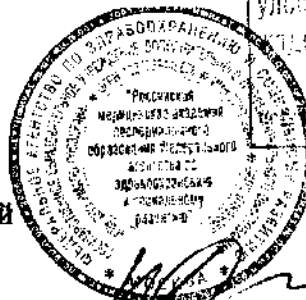
По вопросам, касающимся качества набора «Клиника - Уро», следует обращаться по адресу 142530, Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1, ЗАО «ЭКОлаб»; тел/факс (49643) 3-30-93, 3-30-85 – отдел сбыта.

Начальник лаборатории
биохимии ЗАО «ЭКОлаб»

 Т. М. Сиренко

«СОГЛАСОВАНО»:

Зав. Кафедрой клинической лабораторной
диагностики ГОУ ДПО РМАПО
Росздравнадзора, д.м.н., профессор



 В. В. Долгов

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

6
Начальник лаборатории биохимии
ЗАО «ЭкоЛаб»
Т. М. Гиренко

