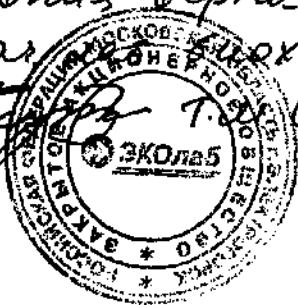


Копия верна:
Над...
Сиренко



«УТВЕРЖДАЮ»
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере здравоохранения
и социального развития

Хабрица
2006



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ МОЧЕВИНЫ УРЕАЗНЫМ МЕТОДОМ В СЫВОРОТКЕ, ПЛАЗМЕ КРОВИ И МОЧЕ

(ЭКОлаб-Мочевина)

Назначение

Набор предназначен для количественного определения содержания мочевины в сыворотке, плазме крови и моче человека в клинично-диагностических и биохимических лабораториях.

Набор рассчитан на проведение 200 определений при расходе 1,0 мл растворов реагентов на одно определение.

Принцип метода

Мочевина под действием уреазы разлагается с образованием аммиака и углекислого газа. Нитропруссид в щелочной среде катализирует реакцию взаимодействия аммиака с салицилатом и натрия гипохлоритом с образованием окрашенного соединения, интенсивность окраски которого пропорциональна содержанию мочевины и определяется фотометрически при длине волны 540 (540-580) нм.

Состав набора:

- Реагент 1 - буферный раствор (натрий фосфорнокислый двузамещенный 12-водный, 36,3 ммоль/л; натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный, 24,4 ммоль/л; этилендиаминтетрауксусная кислота 2-натриевая соль, 1,5 ммоль/л; натрия азид, 3,0 ммоль/л; тритон-Х-100, 1,55 ммоль/л), рН 7,0 - 2 флакона (по 40 мл).
- Реагент 2 - уреазы лиофилизированная (уреаза, 1,5 КЕ; натрий хлористый, 154 ммоль/л) - 2 флакона.
- Реагент 3 - раствор натрия салицилата и натрия нитропруссида (натрий салициловокислый, 0,125 моль/л; натрия нитропруссид, 10,0 ммоль/л) - 2 флакона (по 10 мл).

Инструкция составлена президентом ЗАО «ЭКОлаб» к.м.н. Марданлы С.Г. и начальником отделения биохимии ЗАО «ЭКОлаб» Сиренко Т.М.

- Реагент 4 - раствор натрия гидроокиси и натрия гипохлорита (натрия гидроокись, 0,17 моль/л; натрия гипохлорит, 10,7 ммоль/л) - 1 флакон (100 мл).
- Калибратор - калибровочный раствор мочевины (мочевина, 8,0 ммоль/л; натрия азид, 15,4 ммоль/л; натрий хлористый, 154 ммоль/л) - 1 флакон (2,0 мл).

Аналитические характеристики набора

Линейная область определения – в диапазоне от 2,0 ммоль/л до 40 ммоль/л, отклонение от "линейности" – не более 5%.

Чувствительность – не более 1,0 ммоль/л.

Коэффициент вариации результатов определений - не более 5%.

Качество набора может быть проверено по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

Нормальные значения содержания мочевины:

в сыворотке крови, плазме - 2,5-8,3 ммоль/л; в моче - 330-580 ммоль/сут.

Рекомендуется в каждой лаборатории определить диапазон нормальных величин для обследуемого контингента.

Анализируемые пробы

Негемолизированная сыворотка, гепаринизированная или ЭДТА плазма крови и моча.

Мочу перед определением разбавить дистиллированной водой в 100 раз.

Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Реагент 1 содержит ядовитые вещества – натрия нитропруссид и натрия азид. Реагент 2 - едкое вещество - натрия гидроокись. 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, противозидемического 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 надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные 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 540-580 нм, кювета с длиной оптического пути 1,0 см;
- термостат, поддерживающий температуру 37 ± 1 °C;
- секундомер;
- пробирки стеклянные вместимостью 10 мл;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,01 мл и 0,5 мл;
- физиологический раствор (0,9% NaCl);
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

Подготовка реагентов для анализа

Приготовление рабочего раствора реагентов

К содержимому одного флакона с реагентом 2 добавить 5-7 мл реагента 1, перемешать круговыми движениями, не допуская пенообразования. Полученный раствор перенести во флакон с реагентом 1 и добавить 10 мл Реагента 3 (1 флакон).

Рабочий раствор реагентов можно хранить при температуре (2-8) °С в темном месте в плотно закрытом флаконе не более 7 сут.

Реагент 4 и калибратор готовы к применению.

Проведение анализа

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

Таблица

Отмерить, мл	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Рабочий раствор реагентов	0,5	0,5	0,5
Сыворотка (плазма) крови или моча	0,01	-	-
Калибратор	-	0,01	-
Вода дистиллированная	-	-	0,01
Пробы тщательно перемешать и инкубировать в течение 5 мин при температуре 37 °С или в течение 10 мин при комнатной температуре (18-25°С) и добавить:			
Реагент 4	0,5	0,5	0,5

Содержимое пробирок тщательно перемешать круговыми движениями, избегая образования пены, выдержать при температуре 37 °С в течение 5 мин или при комнатной температуре в течение 10 мин. Раствор следует предохранять от действия солнечного света. Измерить оптическую плотность опытной ($E_{оп}$) и калибровочной (E_k) проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 540 (540-580) нм в кювете с длиной оптического пути 1,0 см. Окраска стабильна в течение 30 мин.

Примечание. При работе на автоматических или полуавтоматических биохимических анализаторах допускается пропорциональное изменение объемов анализируемых проб и реагентов в соответствии с объемом измерительной кюветы.

Расчеты

Содержание мочевины (С, ммоль/л) в сыворотке (плазме) крови определить по формуле:

$$C = \frac{E_{оп}}{E_k} \times 8,0$$

где $E_{оп}$ – оптическая плотность опытной пробы ед. опт. пл.;

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

8,0 – концентрация мочевины в калибраторе, ммоль/л.

Содержание мочевины (С, ммоль/сут) в моче определить по формуле:

$$C = \frac{E_{оп} \times V \times 100}{E_k} \times 8,0,$$

где: $E_{оп}$ – оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. пл.;
 $E_{к}$ – оптическая плотность калибровочной пробы, ед. опт. пл.;
 V – объем мочи, собранный за сутки, л;
 100 – коэффициент разведения мочи;
 8,0 – концентрация мочевины в калибраторе, ммоль/л.

Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре (2-8) °С в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до 25 °С не более 20 сут.

Срок годности набора – 1 год.

Рабочий раствор реагентов можно хранить при температуре (2-8) °С в темном месте в плотно закрытом флаконе не более 7 суток.

Калибратор после вскрытия флакона можно хранить при температуре (2-8) °С в плотно закрытом флаконе не более 6 месяцев.

При содержании мочевины в сыворотке (плазме) крови выше 40 ммоль/л анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором и полученный результат умножить на разведение.

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

По вопросам, касающимся качества набора ЭКОлаб-Мочевина, следует обращаться по адресу 142530, Московская обл, г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1, ЗАО «ЭКОлаб»; тел. (49643) 3-30-93 - отдел сбыта, факс (49643) 3-30-85 (код из Москвы 243) и в Институт контроля лекарственных средств ФГУ «НЦ ЭСМП» Росздравнадзора, 117246, г. Москва, В-246, Научный проезд, д. 14а, тел. (495) 120-60-95, 120-60-96.

Президент ЗАО «ЭКОлаб»
 к.м.н.



С. Г. Марданлы

Начальник отделения
 биохимии



Т. М. Сиренко

Пронумеровано, пронумеровано
и скреплено печатью

4 лист

Начальник лаборатории биохимии
ЗАО «ЭКОлаб»

Г. М. Сиренко

«18» июля 2011 г.

