УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

_____ Е.Н.Схолль-Энгбертс

«__» _____ 2015 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения концентрации мочевины в сыворотке (плазме) крови и моче уреазным/глутаматдегидрогеназным методом

(МОЧЕВИНА-ВИТАЛ)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор МОЧЕВИНА-ВИТАЛ предназначен для количественного определения концентрации мочевины в сыворотке (плазме) крови и моче в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор выпускается в двух видах – лиофилизированном (вариант 1) и жидком (вариант 2) и рассчитан на проведение 50, 100 определений или 250 определений (вариант 1) или на 50, 100, 200, 250, 300 или 360 определений (вариант 2) при расходе 1,0 мл рабочего реагента на один анализ.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Мочевина под действием уреазы разлагается с образованием углекислого газа и аммиака; последний в реакции с L-кетоглутаратом и NADH в присутствии глутаматдегидрогеназы образует NAD^+ и L-глутамат. Скорость окисления NADH в NAD^+ пропорциональна концентрации мочевины в пробе и регистрируется фотометрически при длине волны 340 нм.

СОСТАВ НАБОРА

В состав набора входят:

Вариант 1.

- реагент 1: буфер, pH 8,0, состоящий из трис-HCl, 100 ммоль/л и ЭДТА, 0,9 ммоль/л - 1 флакон (50 мл), или 2 флакона (по 50 мл), или 1 флакон (250 мл);
- реагент 2: лиофилизированная смесь (конечная концентрация в рабочем реагенте: уреаза, 8000 Е/л; глутаматдегидрогеназа, 1000 Е/л; NADH, 0,23 ммоль/л; α-кетоглутарат, 0,15 ммоль/л; АДФ, 13,8 ммоль/л; бычий сывороточный альбумин, 1 мг/мл) – 1, 2 или 5 флаконов.
- калибратор: калибровочный раствор мочевины, 13,3 ммоль/л, готов к применению - 1 флакон (2,0 мл).

Вариант 2.

- реагент 1: трис-HCl, 100 ммоль/л; ЭДТА, 0,9 ммоль/л; глутаматдегидрогеназа, 1000 Е/л; уреаза, 8000 Е/л; АДФ, 13,8 ммоль/л - 1 флакон (40 мл или 200 мл) или 2 флакона (по 40 мл) или 4 флакона (по 40 мл или 72 мл) или 6 флаконов (по 40 мл или по 48 мл);
- реагент 2: α-кетоглутарат, 15 ммоль/л; NADH, 0,23 ммоль/л - 1 флакон (10 мл или 50 мл) или 2 флакона (по 10 мл, по 20 мл или по 32 мл) или 3 флакона (по 24 мл) или 4 флакона (по 18 мл);

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- калибратор: калибровочный раствор мочевины, 13,3 ммоль/л, готов к применению - 1 флакон (2,0 мл) или 2 флакона (по 2,0 мл).

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Линейная область определения концентрации мочевины – в диапазоне от 2 до 32 ммоль/л, отклонение от линейности не превышает 5 %.

Чувствительность определения концентрации мочевины не превышает 1 ммоль/л.

Коэффициент вариации результатов определений - не более 5 %.

Качество набора может проверяться по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам с известной концентрацией мочевины, аттестованным уреазным методом.

Калибратор в наборе восходит к стандартным материалам NIST.

Нормальные величины: сыворотка (плазма) крови: 1,7 – 8,3 ммоль/л; моча 333-583 ммоль/сут.

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

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

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.).

При работе с кровью необходимо 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.

Согласно классификации по СанПиН 2.1.7.2790-10 компоненты набора могут быть отнесены к классу «Г». Утилизацию использованных реагентов и реагентов с истекшим сроком годности производить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 в отношении отходов класса «Г».

Не допускается использование серии набора по истечении срока ее годности.

ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка (плазма) крови, моча.

Перед проведением анализа свежую мочу следует развести дистиллированной водой в 100 раз.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- Спектрофотометр, длина волны 340 нм, термостатируемая кювета с длиной оптического пути 10 мм; полуавтоматический или автоматический биохимический анализатор открытого типа;
- секундомер;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменяемыми наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,01 мл и 1,0 мл;
- вода дистиллированная;
- колба коническая вместимостью 100 мл;
- перчатки резиновые или пластиковые.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ
ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО РЕАГЕНТА

Для варианта 1: Содержимое одного флакона с реагентом 2 растворить в 50 мл реагента 1 и после полного растворения лиофилизата выдержать при комнатной температуре (+18-25°С) в течение 5-10 мин.

Полученный рабочий реагент можно хранить в темном месте при температуре +2-8°С не более 4 мес.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Для варианта 2: Смешать в колбе конической вместимостью 100 мл необходимое количество реагента 1 и реагента 2 в соотношении 4:1. Тщательно закрыть флаконы с реагентами 1 и 2 непосредственно после каждого использования.

Полученный рабочий реагент можно хранить при температуре +2-8°С не более 1 месяца или при комнатной температуре не более 7 сут.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Внести в кювету спектрофотометра реагенты и анализируемые пробы в количествах, указанных в таблице.

Таблица

Отмерить, мл	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Рабочий реагент	1,0	1,0	1,0
Калибратор		0,01	-
Сыворотка (плазма) или разведенная моча	0,01	-	-
Вода дистиллированная	-	-	0,01

Перемешать и через 30 сек (точно!) измерить оптическую плотность (E_1) опытной, калибровочной и контрольной (холостой) проб при длине волны 340 нм при температуре +37°С в кювете с длиной оптического пути 10 мм против воздуха; через 60 сек (точно!) повторно измерить оптическую плотность (E_2) опытной, калибровочной и контрольной (холостой) проб при тех же условиях.

РАСЧЕТЫ

Вычислить изменения оптической плотности для опытной и калибровочной проб по следующим формулам:

$$\Delta E_{оп} = (E_1 - E_2)_{оп} - (E_1 - E_2)_{кон};$$
$$\Delta E_{кал} = (E_1 - E_2)_{кал} - (E_1 - E_2)_{кон};$$

где: $\Delta E_{оп}$ - изменение оптической плотности опытной пробы, ед. опт. плотн;

$\Delta E_{кал}$ - изменение оптической плотности калибровочной пробы, ед. опт. плотн.

Содержание мочевины в сыворотке (плазме) крови определить по формуле:

$$C = \frac{\Delta E_{оп}}{\Delta E_{кал}} \times 13{,}3,$$

где: С – концентрация мочевины, ммоль/л;

13,3 – концентрация мочевины в калибраторе, ммоль/л.

Содержание мочевины в моче определить по формуле:

$$C = \frac{\Delta E_{оп}}{\Delta E_{кал}} \times 13{,}3 \times 100 \times К,$$

где: С – содержание мочевины, ммоль/сут;

13,3 – концентрация мочевины в калибраторе, ммоль/л;

К – количество суточной мочи, л;

100 – коэффициент разбавления мочи.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре +2-8°С в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до + 25°С не более 5 дней.

Срок годности набора – 18 мес.

Рабочий реагент, приготовленный из реагентов по варианту 1, можно хранить в темном месте при температуре +2-8 °С не более 4 мес.

Реагент 1 (по варианту 1) после вскрытия флакона можно хранить при температуре +2-8°С в течение всего срока годности набора.

Реагенты 1 и 2 (по варианту 2) после вскрытия флаконов можно хранить при температуре +2-8°С не более 6 мес при условии достаточной герметичности флаконов.

Рабочий реагент, приготовленный из реагентов по варианту 2, можно хранить в темном месте при температуре +2-8°С не более 1 мес или при комнатной температуре (+18-25°С) не более 7 сут.

Калибратор после вскрытия флакона можно хранить в темном месте при температуре +2-8 °С не более 30 дней при условии достаточной герметичности флакона.

Для отбора и добавления анализируемых проб и компонентов набора рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования.

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

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в ОАО "Витал Девелопмент Корпорэйшн" по адресу:

194 156, Санкт-Петербург, пр. Энгельса, д. 27, корп. 38, лит. К, пом. 18, 19.

Тел/факс: (812) 326-61-98.

и на кафедру КЛД ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России по адресу:

125 284, Москва, 2-й Боткинский пр., д. 5.

Тел.: (495) 945-82-22.

Генеральный директор
ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» Е.Н. Схолль-Энгбертс

Зав. кафедрой клинической лабораторной
диагностики ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России
д. м. н., профессор В.В. Долгов

13 НОЯ 2014

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru