

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ МОЧЕВИНЫ В СЫВОРОТКЕ, ПЛАЗМЕ КРОВИ И МОЧЕ (КАТ.№№ В-11561, В-11562, В-11563, В-11564)

Утверждена приказом Росздравнадзора от 19.01.2009 г. № 222-Пр/09
РУ № ФСР 2009/04025 от 19.01.2009 г.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для фотометрического определения содержания мочевины в сыворотке, плазме крови и моче ферментативным кинетическим УФ-методом в клинико-диагностических лабораториях и в научно-исследовательской практике. Набор рассчитан на 100, 250 и 500 определений при расходе реагентов 1 мл на 1 определение.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Мочевина гидролизуеться в присутствии уреазы с образованием иона аммония (NH_4^+) и CO_2 . Ионы аммония реагируют с альфа-кетоглутаратом и НАДН в присутствии глутаматдегидрогеназы с образованием глутамата и НАД^+ . Скорость окисления НАДН в НАД^+ прямо пропорциональна содержанию мочевины.

СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1 (P1). ТРИС-буфер, уреазы – 10000 Е/л, глутаматдегидрогеназа – 1500 Е/л, АДФ, азид натрия; рН 7,8

Реагент 2 (P2). ТРИС-буфер, 2-оксоглутарат – 6 ммоль/л, НАДН – 0,32 ммоль/л, азид натрия

Калибратор мочевины, 8,33 ммоль/л

Кат.№ Фасовка

В-11561 P1 1x80 мл + P2 1x20 мл + калибратор 5 мл

В-11563 P1 4x20 мл + P2 1x20 мл + калибратор 5 мл

В-11564 P1 1x200 мл + P2 1x50 мл + калибратор 5 мл

В-11562 P1 5x80 мл + P2 1x100 мл + калибратор 2x5 мл

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность – не более 1 ммоль/л

Линейность – от 2 до 33,3 ммоль/л с отклонением не более 5%.

Коэффициент вариации – не более 5%.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Во избежание возможного инфицирования при работе с образцами крови необходимо надевать одноразовые резиновые перчатки.

При использовании набора следует соблюдать правила техники безопасности при работе с химическими веществами.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Анализаторы открытого типа различных изготовителей, набор дозаторов, позволяющих отбирать объёмы 0,01-1,0 мл, терморстат, секундомер.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка или гепаринизированная плазма крови, моча. Не использовать в качестве антикоагулянтов гепаринат аммония и фториды.

Мочевина в сыворотке и плазме стабильна 24 часа при комнатной температуре (18-25°C), 3-5 суток при 2-8°C, при -20°C – до 6 месяцев.

Мочевина в моче стабильна при 2-8°C до 4 суток, для более длительного хранения – заморозить [1, 2].

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

Приготовление монореагента для схемы 1

Смешать необходимые количества реагентов 1 и 2 в соотношении 4:1 и выдержать при комнатной температуре в течение 30 минут. Полученный монореагент стабилен в течение 14 суток при температуре 2-8°C.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны 340 нм.

Кювета с длиной оптического пути 10 мм.

Температура проведения реакции 37°C.

Приготовить пробы в соответствии со схемой определения (объёмы компонентов могут быть пропорционально изменены).

Мочу перед анализом развести дистиллированной водой в 100 раз.

Схема 1. Запуск реакции образцом

Раствор	Опытная проба	Калибровочная проба
Монореагент, мл	1,0	1,0
<i>Инкубировать 5 мин. при температуре 37°C.</i>		
Образец, мл	0,01	–
Калибратор, мл	–	0,01

Пробы тщательно перемешать. Через 60 с измерить оптическую плотность опытной ($E_{обр.1}$) и калибровочной ($E_{кал.1}$) проб относительно воздуха или воды. Через 60 с повторить измерение ($E_{обр.2}$) и ($E_{кал.2}$).

Схема 2. Запуск реакции реагентом 2

Раствор	Опытная проба	Калибровочная проба
Реагент 1, мл	0,8	0,8
Образец, мл	0,01	–
Калибратор, мл	–	0,01
<i>Инкубировать 5 мин. при температуре 37°C.</i>		
Реагент 2, мл	0,2	0,2

Пробы тщательно перемешать. Через 60 с измерить оптическую плотность опытной ($E_{обр.1}$) и калибровочной ($E_{кал.1}$) проб относительно воздуха или воды. Через 60 с повторить измерение ($E_{обр.2}$) и ($E_{кал.2}$).

Рассчитать $\Delta E_{обр.} = (E_{обр.1} - E_{обр.2})$ для анализируемого образца и

$\Delta E_{кал.} = (E_{кал.1} - E_{кал.2})$ и калибратора.

Примечание. Если вносится 1 мл реагента 1, то объём образца следует увеличить до 0,125 мл, а объём реагента 2 до 0,25 мл.

КлиниТест-Мочевина

РАСЧЁТ

1. Содержание мочевины **C** в сыворотке (плазме) крови рассчитать по формуле:

$$C = \frac{\Delta E_{\text{обр.}} \cdot 8,33}{\Delta E_{\text{кал.}}} \text{ ммоль/л,}$$

где 8,33 – концентрация мочевины в калибраторе, ммоль/л.

2. Содержание мочевины **C** в моче рассчитать по формуле:

$$C = \frac{\Delta E_{\text{обр.}} \cdot 8,33 \cdot 100}{\Delta E_{\text{кал.}}} \text{ ммоль/л,}$$

где 100 – коэффициент, учитывающий разведение мочи.

3. Содержание мочевины в суточной моче можно рассчитать по формуле:

$$C_{\text{сут.}} = C \cdot V_{\text{сут.}}$$

где $C_{\text{сут.}}$ – содержание мочевины в суточной моче, ммоль/сут.

C – содержание мочевины в моче, ммоль/л,

$V_{\text{сут.}}$ – количество суточной мочи, л/сут.

ПАРАМЕТРЫ ДЛЯ БИОХИМИЧЕСКИХ АНАЛИЗАТОРОВ

Тип анализатора	Любой
Метод измерения	Кинетика
Длина волны, нм	340
Измерение против	Воздуха или дистилл. воды
Температура реакции	37°C
Единица измерения	ммоль/л
Число знаков после запятой	2
Изменение оптической плотности	Уменьшается
Соотношение реагент/проба	100:1
Количество измерений, не менее	3
Время преинкубации, сек.	60
Время реакции, сек.	60
Верхний предел абсорбции реагента против воды, E	2
Нижний предел абсорбции реагента против воды, E	0,8
Границы линейности, ммоль/л	2-33,3
Максимум нормы, ммоль/л	8,32*
Минимум нормы, ммоль/л	2,50*

*Приведены нормальные величины для сыворотки и плазмы крови.

В случае возникновения каких-либо трудностей можно запросить адаптированную инструкцию по работе с набором «КлиниТест-Мочевина» на вашем анализаторе.

ПРИМЕЧАНИЕ

Если содержание мочевины в анализируемом образце выше 33,3 ммоль/л образец развести физраствором в 4 раза, анализ повторить, величину рассчитанной активности умножить на 4.

НОРМАЛЬНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Сыворотка 2,50-8,32 ммоль/л

Моча 330-580 ммоль/л

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнять диапазон нормальных величин.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре 2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (12 месяцев). Допускается хранение и транспортирование набора при температуре до +25°C не более 5 суток. Допускается однократное замораживание. Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов могут храниться при температуре 2-8°C и при условии достаточной герметичности флаконов в течение всего срока годности набора. Калибратор мочевины после вскрытия флакона может храниться при температуре 2-8°C – не более 1 месяца.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества может быть проведён по контрольным сывороткам и моче, аттестованным данным методом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Обеспечение качества лабораторных исследований. Преаналитический этап. Под ред. В.В. Миньшикова, М., 1999, «Лабинформ», с. 161.
2. Энциклопедия клинических лабораторных тестов. Под ред. проф. Н.У. Тица, М., 1997, «Лабинформ», с. 337-338.