

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ МОЧЕВОЙ КИСЛОТЫ В СЫВОРОТКЕ, ПЛАЗМЕ КРОВИ И МОЧЕ (КАТ.№№ В-11613, В-11614)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для определения содержания мочевой кислоты ферментативным методом в сыворотке, плазме крови и моче в научных исследованиях. Набор рассчитан на 100 и 500 определений при расходе рабочего реагента 1 мл на 1 определение.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Мочевая кислота в присутствии уриказы окисляется до аллантаина с образованием перекиси водорода. Перекись водорода в присутствии пероксидазы взаимодействует с 4-аминоантипирином и 2-гидрокси-3,5-дихлорбензолсульфонатом с образованием окрашенного соединения. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации мочевой кислоты в исследуемой пробе.

СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1 (P1). Фосфатный буфер – 50 ммоль/л, pH 7,4, аскорбатоксидаза – 1000 Ед/л, 2-гидрокси-3,5-дихлорбензолсульфонат – 2,5 ммоль/л, консерванты, стабилизаторы.

Реагент 2 (P2). Уриказа – 200 Ед/л, пероксидаза – 1000 Ед/л, 4-аминоантипирин – 0,25 ммоль/л, ферроцианид калия – 30 мкмоль/л.

Калибратор мочевой кислоты, 357 мкмоль/л.

Кат.№ Фасовка

В-11613 P1 1x80 мл + P2 1x20 мл + калибратор 3 мл

В-11614 P1 5x80 мл + P2 1x100 мл + калибратор 2x3 мл

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность – не более 36 мкмоль/л.

Линейность – от 40 до 1428 мкмоль/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, дозаторы, позволяющие отбирать объём 0,025, 0,1–1,0 мл, термостат, секундомер, дистиллированная вода.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка, гепаринизированная или ЭДТА-плазма, моча. Не использовать фторид натрия.

Мочевая кислота в сыворотке и плазме крови стабильна при 18-25°C в течение 72 ч, при 4°C до 3-7 дней, при -20°C до 12 месяцев. В охлаждённой до 2-8°C суточной моче – до нескольких дней. 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. Полученный монореагент стабилен в течение 2 недель при температуре 2-8°C.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны 520 (505-520) нм.

Кювета с длиной оптического пути 10 мм.

Температура проведения реакции 37°C, 20-25°C.

Мочу перед анализом развести дистиллированной водой в 10 раз. Учесть разведение при расчёте.

Схема 1. Запуск реакции образцом

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

Схема определения

Раствор	Опытная проба	Калибровочная проба	Холодная проба
Образец, мл	0,025	–	–
Калибратор, мл	–	0,025	–
Дистилл. вода, мл	–	–	0,025
Монореагент, мл	1,00	1,00	1,00

Пробы тщательно перемешать, избегая пенообразования, выдержать при температуре 37°C в течение 10 мин. или при температуре 20-25°C в течение 20 мин. и измерить оптическую плотность опытной пробы ($E_{обр.}$) и калибровочной пробы ($E_{кал.}$) относительно холодной пробы.

Окраска стабильна в течение 1 часа.

Схема 2. Запуск реакции реагентом 2

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

Схема определения

Раствор	Опытная проба	Калибровочная проба	Холодная проба
Образец, мл	0,025	–	–
Калибратор, мл	–	0,025	–
Дистилл. вода, мл	–	–	0,025
Реагент 1, мл	0,8	0,8	0,8
Реагент 2, мл	0,2	0,2	0,2

Пробы тщательно перемешать, избегая пенообразования, выдержать при температуре 37°C в течение 10 мин. или при температуре 20-25°C в течение 20 мин. и измерить оптическую плотность опытной пробы ($E_{обр.}$) и калибровочной пробы ($E_{кал.}$) относительно холодной пробы.

Окраска стабильна в течение 1 часа.

КлиниТест-Мочевая кислота

РАСЧЁТ

Содержание мочевой кислоты в сыворотке (плазме) крови **C** рассчитать по формуле:

$$C = \frac{E_{\text{обр.}}}{E_{\text{кал.}}} \cdot 357 \text{ мкмоль/л,}$$

Содержание мочевой кислоты **C** в моче рассчитать по формуле:

$$C = \frac{E_{\text{обр.}} \cdot 357 \cdot 10}{E_{\text{кал.}}} \text{ мкмоль/л,}$$

где **357** – концентрация мочевой кислоты в калибраторе, мкмоль/л,

10 – коэффициент разведения мочи.

Содержание мочевой кислоты в суточной моче рассчитать по формуле:

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

где **C** – содержание мочевой кислоты в моче, мкмоль/л,

V_{сут.} – количество суточной мочи, л.

ПАРАМЕТРЫ ДЛЯ БИОХИМИЧЕСКИХ АНАЛИЗАТОРОВ

Тип анализатора	Любой
Метод измерения	Конечная точка
Длина волны, нм	520 (505-520)
Измерение против	Рабочего реагента
Температура реакции	20-25°C, 37°C
Единица измерения	мкмоль/л
Число знаков после запятой	0
Концентрация стандарта, г/л	357
Соотношение реагент/проба	40:1
Время реакции, мин.	1200 (20-25°C) 600 (37°C)
Верхний предел абсорбции реагента против воды, E	0,2
Нижний предел абсорбции реагента против воды, E	0
Границы линейности	40-1428
Максимум нормы	420*
Минимум нормы	200*

*Для сыворотки крови у мужчин.

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

ПРИМЕЧАНИЯ

1. При содержании мочевой кислоты в исследуемой пробе выше 1428 мкмоль/л образец развести физраствором, анализ повторить, величину рассчитанной активности умножить на коэффициент разведения.
2. Оптическая плотность рабочего реагента против дистиллированной воды при 500 нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм не должна превышать 0,15 о.е.

НОРМАЛЬНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Справочно.

Мужчины	200-420 мкмоль/л
Женщины	140-340 мкмоль/л
Суточная моча человека	1,5-4,5 ммоль

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 после вскрытия флаконов можно хранить при температуре 2-8°C в течение всего срока годности набора. Калибратор после вскрытия флакона можно хранить при температуре 2-8°C в течение трёх месяцев.

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. Меньшикова, М., 1999, "Лабинформ", с.161.
2. Энциклопедия клинических лабораторных тестов. Под ред. проф. Н.У. Тица, М., 1997, "Лабинформ", с. 337-338.