ИНСТРУКЦИЯ
к набору реагентов для определения концентрации мочевины кинетическим методом

Торговая форма и состав набора

Кат №1.102.0.01	Реагент R1 Реагент R2 Стандарт (13,33 ммоль/л)	1 фл * 80 мл 1 фл * 20 мл 1 фл * 1 мл
Кат №1.102.0.10	Реагент R1 Реагент R2 Стандарт (13,33 ммоль/л)	5 фл * 80 мл 1 фл * 100 мл 1 фл * 1 мл

Принцип метода

Ферментативный кинетический метод основан на последовательности реакций:

$$Мочевина + H_2O \xrightarrow{Уреаза} 2\ NH_4^+ + 2HCO_3^-$$

$$NH_4^+ + 2\text{-оксоглутарат} + NADH \xrightarrow{ГЛДГ} NAD^+ + L\text{-глутарат} + H_2O$$

Уменьшение концентрации NADH пропорционально концентрации мочевины в образце, что измеряется фотометрически при длине волны 340 нм.

Аналитические характеристики набора:

Линейность: 2-30 ммоль/л.

Точность: коэффициент вариации не более 5,0%

Образцы и их стабильность

Сыворотка или плазма крови (не использовать аммониевую соль гепарина или оксалат аммония!), свежесобранная моча. Мочу перед анализом разводят дистиллированной водой в соотношении 1:100 и результат умножают на 100.

Подготовка реагентов для анализа и их стабильность

Для приготовления Рабочего реагента за 30 мин до анализа необходимо смешать Реагент R1 и Реагент R2 в соотношении 4:1. Не допускать вспенивания.

Проведение анализа

Длина волны 340 нм, температура измерений 37° С, кювета 1 см.

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, мл	Калибровочная проба, мл
Рабочий реагент	1,0	1,0
Инкубировать 5 мин. при температуре 37° С		
Образец	0,01	-
Стандарт	-	0,01
Пробы тщательно перемешать. Через 30 с измерить оптическую плотность опытной ($A_{обр.1}$) и калибровочной ($A_{калибр.1}$) проб относительно воздуха или воды. Через 60 с повторить измерение ($A_{обр.2}$) и ($A_{калибр.2}$).		

Схема 2. Запуск реакции реагентом 2

Раствор	Опытная проба, мл	Калибровочная проба, мл
Реагент 1	0,8	0,8
Образец	0,01	-
Стандарт	-	0,01
Инкубировать 5 мин. при температуре 37°С		
Реагент 2	0,2	0,2
Пробы тщательно перемешать. Через 30 с измерить оптическую плотность опытной ($A_{обр.1}$) и калибровочной ($A_{калибр.1}$) проб относительно воздуха или воды. Через 60 с повторить измерение ($A_{обр.2}$) и ($A_{калибр.2}$).		

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

Расчет

Концентрацию мочевины в образце ($C_{обр}$) в ммоль/л рассчитать по формуле:

$$\mathbf{C_{обр} = (\Delta A_{обр.} * C_{калибр.}) / \Delta A_{калибр}},$$

где $C_{калибр}$ – концентрация мочевины в калибровочном растворе (см. на флаконе).

При определении концентрации мочевины в моче результат умножают на 100 (коэффициент разведения).

Содержание мочевины $C_{сут}$ в суточной моче рассчитать по формуле:

$$\mathbf{C_{сут} = C*V},$$

где $C_{сут}$ – концентрация глюкозы в суточной моче, ммоль/сут.,
C – концентрация мочевины в моче, ммоль/л,
V—количество суточной мочи, л/сут. .

Параметры для автоматических биохимических анализаторов

Для работы с монореагентом:

Настройки для анализатора	
Тест	Urea
№	*
Полное название	Мочевина
№ стандарта	*
Тип реакции	Кинетика
Первичная длина волны	340
Вторичная длина волны	405
Направление	Нисходящая
Измерение против	Воздуха или дистилл. воды
Время реакции, с	30
Время инкубации, с	60
Единицы	ммоль/л
Соотношение реагент/проба	100 : 1
Точность	0,01
Объем R1	400
Объем R2	0
Объем пробы	4
R1 холост	
Смеш холост реаг	
Диапазон линейности	
Предел линейности	-
Предел субстр	
Коэффициент	-
КАЛИБРОВКА	
Правило калибровки	линейная
Чувствительность	0
Повторы	2
Интервал	0
SD	-
Холостой ответ	0
Предел ошибки	0
Коэффициент корреляции	-

* значения вводит оператор.

При работе с двумя реагентами:

Настройки для анализатора	
Тест	Urea
№	*
Полное название	Мочевина
№ стандарта	*
Тип реакции	Фикс. время
Первичная длина волны	340
Вторичная длина волны	405
Направление	Нисходящая
Время реакции, с	30
Время инкубации, с	60
Единицы	ммоль/л
Соотношение реагент/проба	100 : 1
Точность	0,01
Объем R1	320
Объем R2	80
Объем пробы	4
R1 холост	
Смеш холост реаг	
Диапазон линейности	
Предел линейности	-
Предел субстр	
Коэффициент	-
КАЛИБРОВКА	
Правило калибровки	линейная
Чувствительность	0
Повторы	2
Интервал	0
SD	-
Холостой ответ	0
Предел ошибки	0
Коэффициент корреляции	-

* значения вводит оператор.

Нормальные значения

сыворотка или плазма крови	2,50 – 8,32 ммоль/л
моча	330 – 580 ммоль/л

Примечания

- Использовать только для диагностики in vitro.
- Реагенты содержат азид натрия в качестве консерванта: избегать попадания на кожу и слизистые!
- Пробы, содержащие мочевину выше 30 ммоль/л , разводят 0,9% раствором NaCl в соотношении 1:1, а полученный результат умножают на 2.
- Реагенты пригодны к использованию, если оптическая плотность рабочего реагента больше 1,000 (измерять при комнатной температуре относительно дистиллированной воды при длине волны 340 нм в кювете с длиной оптического пути 1 см).
- 1 мг мочевины соответствует 0,467 мг BUN.

Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться при температуре 2-8° С в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (12 месяцев от даты производства). Рабочий раствор стабилен в течение 7 дней при 2-8° С или 48 часов при 15-25° С в темном месте! Предохранять от света и загрязнений!

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