

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 2009 г. № _____ -Пр/09

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор Управляющей компании
ООО «Эйлитон» - ООО «Финимед-менеджмент»

«ЭЙЛИТОН»
АИЛИТОН
Н.Шибанов
2009г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для количественного определения содержания мочевой кислоты в сыворотке или плазме крови и моче человека ферментативным методом

МОЧЕВАЯ КИСЛОТА - UTS

1. НАЗНАЧЕНИЕ

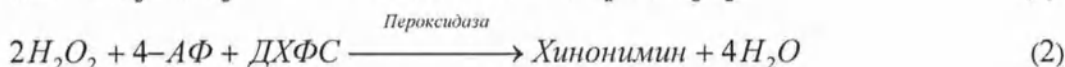
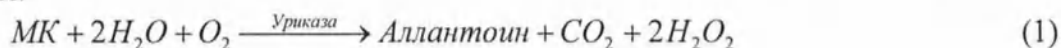
1.1. Набор предназначен для количественного определения содержания мочевой кислоты в сыворотке или плазме крови и моче человека ферментативным методом в клинико-диагностических лабораториях только для диагностики *in vitro*.

1.2. Набор рассчитан на проведение 100 (комплект 1), 200 (комплект 2), и 400 (комплект 3) или 500 (комплект 4) определений при расходе 1,0 мл рабочего реагента на одно определение.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Мочевая кислота (МК) исследуемого образца окисляется ферментом уриказой с образованием аллантиина и перекиси водорода (1). Взаимодействие перекиси водорода с 4-аминофеназоном (4-АФ) и 2,4-дихлорфенолсульфонатом (ДХФС), катализируемое пероксидазой (2), приводит к образованию окрашенного соединения красного цвета (хинонимина), интенсивность окраски которого прямо пропорциональна концентрации мочевой кислоты в пробе и измеряется фотометрически при длине волны 520 нм (490-550) нм.



2.2. Клиническое значение

Мочевая кислота и ее соли являются конечными продуктами метаболизма пуриновых оснований. Являясь основной формой выведения избытка пуринов из организма почками, мочевая кислота во внеклеточной жидкости, в том числе и в плазме крови, присутствует в виде солей натрия в концентрации, близкой к насыщению, поэтому существует возможность кристаллизации мочевой кислоты, с образованием (урата натрия). Повышение уровня мочевой кислоты в крови (гиперурикемия) имеет большое значение для диагностики подагры.

2.3. Состав набора

Компоненты и их концентрации в реакционной смеси:

Наименование	Состав	Концентрация
Реагент 1 (Р1) Буферный раствор	Однозамещенный фосфат калия, рН 10,4 2,4-дихлорфенилсульфонат	50 ммоль/л 4 ммоль/л
Реагент 2 (Р2) Ферментно- субстратный раствор	Уриказа Пероксидаза Аскорбатоксидаза 4-аминофеназон	60 Е/л 660 Е/л 200 Е/л 1 ммоль/л
Калибратор	Калибровочный раствор мочевой кислоты	357мкмоль/л

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Набор обеспечивает линейную область определения содержания мочевой кислоты в диапазоне концентраций от 10 до 1500 мкмоль/л, отклонение от линейности не превышает 5%.

3.2. Чувствительность определения – не более 10 мкмоль/л.

3.3. Коэффициент вариации результатов определений – не более 2,5%.

3.4. Качество набора можно оценивать по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

3.5. Коэффициент пересчета концентрации: $1 \text{ мкмоль/л.} = 1 \text{ мг/дл} \times 59,5$

3.6. Нормальные величины мочевой кислоты в сыворотке человека составляют:

для женщин – 149 – 405 мкмоль/л;

для мужчин – 214 – 458 мкмоль/л;

в моче: – 1,49 – 4,5 ммоль/24 ч.

3.7. Рекомендуются в каждой лаборатории уточнить диапазон значений нормальных величин для обследуемого контингента людей.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

4.2. Реагент 1 содержит 2,4-дихлорфенилсульфонат. Следует избегать попадания реагента на кожу и слизистые. В случае попадания их на кожу и слизистые оболочки необходимо промыть поражённые участки большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с набором необходимо соблюдать «Правила 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.).

4.4. 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, вирусы гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- Спектрофотометр, программируемый фотометр или анализатор; кювета с длиной оптического пути 10 мм, длина волны 520 (490-550) нм;
- Термостат, обеспечивающий температуру $+37 \pm 1$ °С;
- Секундомер;
- Пробирки стеклянные вместимостью 3,0-5,0 мл;
- Цилиндры, мерные вместимостью 50 и 100 мл;
- Пипетки, позволяющие отбирать объёмы жидкости 25 и 1000 мкл;
- Колба коническая вместимостью 200 мл;
- 0,9% раствор NaCl (физиологический раствор);
- Перчатки резиновые или пластиковые.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Негемолизированная сыворотка, плазма крови и моча человека. Сыворотку крови следует отделять от форменных элементов крови не позднее, чем за 1 час после забора крови.

6.2. Суточную мочу перед определением следует развести дистиллированной водой в 50 раз. Охлажденную мочу следует предварительно нагреть при 60 °С в течение 10 минут для растворения образовавшихся кристаллов уратов и мочевой кислоты. Образцы не замораживать.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Приготовление раствора рабочего реагента.

Смешать в колбе конической вместимостью 200 мл один объем реагента Р1 и один объем реагента Р2 (например, по 100 мл каждого). Тщательно закрывать флаконы с реагентами Р1 и Р2 непосредственно после каждого использования.

7.2. Проведение реакции.

Компоненты реакционной смеси отбирать в объемах, указанных в таблице:

Наименование	Анализируемая проба	Калибровочная проба	Холостая проба
Рабочий реагент, мкл	1000	1000	1000
Вода дистиллированная, мкл			25
Калибратор, мкл	-	25	-
Сыворотка крови или разведенная моча, мкл	25	-	-

7.3. Реакционную смесь тщательно перемешать и инкубировать при температуре +37 °С в течение 5 минут или при комнатной температуре (+18-25 °С) в течение 10 минут.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерить оптическую плотность опытной пробы и калибровочной пробы против холостой пробы в кювете с длиной оптического пути 10 мм при длине волны 520 (490-550) нм. Окраска растворов стабильна в течение 20 минут при комнатной температуре.

Примечание. При использовании автоматических или полуавтоматических биохимических анализаторов количество реагентов и анализируемых образцов в зависимости от объема используемой кюветы может быть пропорционально изменено (соотношение сыворотки крови или разбавленной мочи к рабочему реагенту составляет 1:40).

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Содержание мочевой кислоты в сыворотке, плазме крови в мкмоль/л определить по формуле:

$$C = \frac{A_{обр}}{A_{кал}} \times 357,$$

где: С – концентрация мочевой кислоты в анализируемом образце сыворотки или плазмы, мкмоль/л;

$A_{обр}$ – оптическая плотность анализируемой пробы, ед. опт. плотн;

$A_{кал}$ – оптическая плотность калибровочной пробы, ед. опт. плотн;

357 – содержание мочевой кислоты в калибраторе, мкмоль/л.

9.2. Содержание мочевой кислоты в суточной моче (в ммоль/сутки) определить по формуле:

$$C_{сут} = \frac{A_{обр} \times V \times 50}{A_{кал} \times 1000} \times 357,$$

где: $C_{сут}$ – концентрация мочевой кислоты в анализируемом образце мочи, ммоль/сутки;

$A_{обр}$ – оптическая плотность анализируемой пробы, ед. опт. плотн;

$A_{кал}$ – оптическая плотность калибровочной пробы, ед. опт. плотн;

V – количество мочи, собранной за сутки, л;

357 – содержание мочевой кислоты в калибраторе, мкмоль/л;

50 – коэффициент разведения мочи.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор «МОЧЕВАЯ КИСЛОТА-UTS» должен храниться при температуре +2-8 °С в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается хранение наборов при температуре до +25 °С не более 5 суток. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.2. Срок годности набора – 1 год.

10.3. Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов могут храниться при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности набора в плотно закрытых флаконах при условии отсутствия загрязнений.

10.4. Раствор рабочего реагента можно хранить в течение 4 суток при комнатной температуре (+18-25 °С) или не более 1 недели при температуре +2-8 °С.

10.5. Калибратор после вскрытия флакона можно хранить при температуре +2-8 °С не более 1 месяца в плотно закрытом флаконе при отсутствии загрязнений.

10.6. При содержании мочевой кислоты в сыворотке крови выше 1500 мкмоль/л, пробу следует развести физиологическим раствором в 2 раза, повторить анализ и полученный результат умножить на 2.

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

По вопросам, касающимся качества набора «МОЧЕВАЯ КИСЛОТА-UTS», следует обращаться в ЗАО «А/О ЮНИМЕД» по адресу: 129301, Москва, ул. Касаткина, 3а; Тел. (495) 734-91-31, 8-800-333-91-31. Факс: (495) 564-86-41; E-mail: office@unimeda.ru; <http://www.unimeda.ru>

Руководитель отдела производства реагентов
ООО «ЭЙЛИТОН»

В.Н. Нечаев к.б.н. Нечаев В.Н.

«СОГЛАСОВАНО»

зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики
ГОУ ДПО «РМАПО Росздравнадзора»

В.В. Долгов д.м.н., профессор Долгов В.В.

2009 г



Подпись В.В. Долгова
удостоверяю: специалист по
кадровой работе ГОУ ДПО
РМАПО Росздрава
подпись: М.В. Мельникова

29.05.09

Всего прошнуровано,
пронумеровано и скреплено
печатью 04 лист.
Генеральный директор УК
А.Н. Шибанов

