

КОПИЯ ВЕРНА

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель Руководителя Департамента
Государственного контроля качества,
эффективности, безопасности лекарственных
средств и медицинской техники МЗ РФ



Топорков А.А.

2001 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения концентрации мочевой кислоты
в биологических жидкостях

(МОЧЕВАЯ КИСЛОТА – ОЛЬВЕКС)

Рекомендована к утверждению экспертной комиссией по лабораторным реагентам
Комитета по новой медицинской технике Минздрава РФ.
(протокол № 11 от 25 декабря 2000 г.)

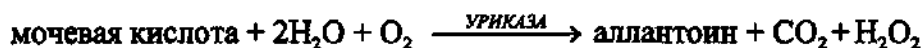
Назначение

Набор предназначен для количественного определения содержания мочевой кислоты в сыворотке, плазме крови и моче человека в клиничко-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан для проведения 50 или 100 определений при расходе 2,0 мл рабочего реагента на один анализ.

Принцип метода

Определение основано на проведении сопряженных реакций, катализируемых уриказой и пероксидазой в присутствии хромогена с образованием окрашенного продукта N-(4-антипирил)-3-хлор-5-фенолсульфонатхинономоноимина (хинонимина):



Интенсивность окраски развившейся в результате образования хинонимина пропорциональна концентрации мочевой кислоты в пробе и регистрируется фотометрически при длине волны 520 (490-540) нм.

Инструкция составлена руководителем НКО клинической лабораторной диагностики, руководителем отдела атеросклероза НИИ Кардиологии Минздрава РФ, д.м.н., профессором В.С.Гуревичем и техническим директором ООО "Ольвекс Диагностикум" А.Ю.Ивановым.

Состав набора

Реагент № 1. Буфер, pH 7,7-7,8 (2 флакона по 50 мл или 2 флакона по 100 мл).

Конечные концентрации в рабочем реагенте: калий фосфорнокислый однозамещенный – 100 ммоль/л; 3,5-дихлор-2-фенолсульфонат натрия – 1 ммоль/л; Трилон Б – 2,5 ммоль/л; Triton X-100 – 0,1 г/л; азид натрия – 4 ммоль/л; калия гидроокись – 50 ммоль/л.

Реагент № 2. Лиофилизат, (2 флакона).

Конечные концентрации в рабочем реагенте: калий фосфорнокислый однозамещенный – 100 ммоль/л; бычий сывороточный альбумин (БСА) – 0,6 г/л; 4-аминоантипирин – 1 ммоль/л; уриказа – 500 МЕ/л; пероксидаза – 500 МЕ/л; холевой кислоты натриевая соль – 5 ммоль/л; натрия гидроокись – 5 ммоль/л; pH 7,5.

Реагент № 3. Калибровочный раствор мочевой кислоты, (1 флакон, 1 мл или 1 флакон, 2 мл). Готов к применению. Состав: мочевая кислота – 357 мкмоль/л (60 мг/л); натрий углекислый – 1 ммоль/л; бычий сывороточный альбумин (БСА) – 50 г/л; натрия азид – 1,4 ммоль/л.

Аналитические характеристики набора

Диапазон определяемых концентраций (линейность): 80 – 1200 мкмоль/л. Отклонение от линейности не превышает 5 %.

Чувствительность определения – не более 40 мкмоль/л.

Коэффициент вариации результатов определений – не более 5 %.

Качество набора может оцениваться по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

Нормальные величины: сыворотка (плазма) крови – у женщин 142-339 мкмоль/л, у мужчин – 202-416 мкмоль/л; моча – 1,49-4,46 ммоль/сут.

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

Анализируемые образцы

Негемолизированная сыворотка или плазма крови, моча.

Перед проведением анализа свежую мочу следует развести физиологическим раствором в 10 раз.

Аскорбиновая кислота до концентрации 570 мкмоль/л и билирубин до концентрации 250 мкмоль/л не влияют на правильность определения мочевой кислоты.

Меры предосторожности

Реагенты 1 и 3 содержат токсичный компонент – азид натрия в качестве протектора. Следует избегать попадания реагентов 1 и 3 на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место проточной водой. При попадании внутрь следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

При работе с сывороткой или плазмой крови человека следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять или передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Оборудование, материалы, реагенты:

- Спектрофотометр или фотометр, длина волны 520 (490-540) нм, кювета с длиной оптического пути 10 мм; полуавтоматический или автоматический биохимический анализатор;
- термостат, поддерживающий температуру $+37 \pm 1$ °C;
- секундомер;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,05 мл, 2,0 мл;
- пробирки вместимостью 5,0 мл;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- физиологический раствор.

Приготовление рабочего реагента

Содержимое флакона с реагентом 2 количественно растворить во флаконе с реагентом 1 и после полного растворения лиофилизата выдержать при комнатной температуре (18-25°C) в течение 60 мин.

Светло-розовая окраска рабочего реагента является допустимой.

Тщательно закрывать флаконы непосредственно после каждого использования.

Полученный рабочий реагент можно хранить не более 3 недель при температуре $+2-8$ °C.

Проведение анализа

В пробирку вместимостью 5,0 мл внести 50 мкл сыворотки (плазмы) крови или разведенной в 10 раз мочи (опытная проба). Во вторую пробирку внести 50 мкл калибратора. Затем в обе пробирки добавить по 2,0 мл рабочего реагента. Содержимое пробирок перемешать и инкубировать в течение 10 мин (точно!) при температуре $+37$ °C.

При работе на автоматических и полуавтоматических анализаторах используемый объем рабочего реагента может быть изменен при обязательном соблюдении величины соотношения рабочий реагент/исследуемый образец равной 40 : 1

Опытную и калибровочную пробы фотометрировать против рабочего реагента (контрольная проба) при длине волны 520 (490-540) нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм.

Окраска стабильна в течение 15 мин после окончания инкубации.

Расчеты

Концентрацию мочевой кислоты (X) в сыворотке или плазме крови рассчитать по формуле:

$$X = \frac{E_{np}}{E_{kal}} \cdot 357 \quad (\text{мкмоль/л}),$$

где: E_{np} - оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. плотности;
 E_{kal} - оптическая плотность калибратора, ед. опт. плотности;
 357 - концентрация мочевой кислоты в калибраторе, мкмоль/л.

Содержание мочевой кислоты (X_m) в моче рассчитать по формуле:

$$X_m = \frac{E_{np}}{E_{кал}} \cdot 0,357 \cdot V \cdot 10 \quad (\text{ммоль/сут}),$$

где: E_{np} – оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. плотности;
 $E_{кал}$ – оптическая плотность калибратора, ед. опт. плотности;
 0,357 – концентрация мочевой кислоты в калибраторе, ммоль/л;
 V – объем суточной мочи, л;
 10 – коэффициент разведения исследуемого образца.

Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя в темном месте при температуре + 2-8 °С в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до + 25 °С не более 10 дней.

Калибратор после вскрытия флакона стабилен в течение 2 мес.

Рабочий реагент можно хранить не более 3 недель при температуре + 2-8 °С.

Срок годности набора - 6 мес.

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

По вопросам, касающимся качества набора МОЧЕВАЯ КИСЛОТА-ОЛЬВЕКС, следует обращаться в ООО "Ольвекс Диагностикум" по адресу:

195197, г. Санкт-Петербург, пр. Обуховской обороны, 70.

Тел: (812) 567-84-46, (812) 567-83-02; Факс: (812) 567-84-29

и в Институт государственного контроля лекарственных средств НЦ ЭГКЛС

Минздрава РФ по адресу:

117246, г. Москва, Научный проезд, д. 14 А. Тел.: (095) 120-60-95, 120-60-96.

Д.М.Я., профессор



В.С.Гуревич

Технический директор ООО "Ольвекс Диагностикум"



А.Ю.Иванов