



In vitro solutions

Набор биохимических реагентов для ветеринарии

МОЧЕВАЯ КИСЛОТА ДиаВетТест



ООО «ДИАВЕТ»

142290, г. Пущино, Московской обл.

<https://diakonvet.ru/>

info@diakonvet.ru

НАЗНАЧЕНИЕ

МОЧЕВАЯ КИСЛОТА ДиаВетТест – это набор жидких, готовых к употреблению реагентов для количественного определения содержания мочево́й кислоты ферментативным методом в сыворотке крови и моче животных и птиц.

Набор реагентов должен использоваться квалифицированным персоналом в области ветеринарной лабораторной диагностики.

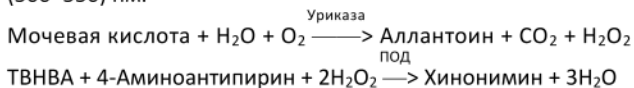
Количество определений зависит от объема фасовки реагентов и типа используемого биохимического анализатора.

МЕТОД

Ферментативный фотометрический тест с 2,4,6-трибром-3-гидроксибензойной кислотой (ТВНВА).

ПРИНЦИП МЕТОДА

Уриказа катализирует реакцию окисления мочево́й кислоты с образованием аллантиона и перекиси водорода. Перекись водорода взаимодействует с 4-аминоантипирином и 2,4,6-трибром-3-гидроксибензойной кислотой с образованием окрашенного соединения, интенсивность окраски которого прямо пропорциональна концентрации мочево́й кислоты в пробе и измеряется фотометрически при длине волны 520 (500–550) нм.



СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1	Буферный раствор, pH 7,0, содержащий Однозамещенный фосфат натрия	0,1 моль/л
	2,4,6-трибром-3-гидроксибензойную кислоту	≥1,0 ммоль/л
Реагент 2	Буферно-ферментный раствор, pH 7,0, содержащий Однозамещенный фосфат натрия	0,1 моль/л
	4-аминоантипирин	≥1,2 ммоль/л
	Ферроцианид калия	0,05 ммоль/л
	Пероксидазу	≥15 кЕд/л
	Уриказу	≥200 Ед/л
Калибратор	Калибровочный раствор мочево́й кислоты	357 мкмоль/л
	Азид натрия	0,095%

Реагенты и калибраторы ДиаВетТест поставляются жидкими и готовыми к использованию.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Параметр	Значение
Линейность	50–2500 мкмоль/л
Отклонение от линейности	не более 5%
Чувствительность	не более 40 мкмоль/л
Коэффициент вариации	не более 5%

Примечание. Нормальные показатели для разных животных могут варьировать в широких пределах. При содержании мочево́й кислоты в образце выше 2500 мкмоль/л анализируемую пробу следует развести 1+1 физиологическим раствором (0,9% NaCl), повторить анализ и полученный результат умножить на 2.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов рекомендуем проводить измерения контрольной сыворотки «Норма» (TruLab N) (ТВНВА), контрольной сыворотки «Патология» (TruLab P) (ТВНВА) и контрольной мочи TruLab Urine (Уровень 1 и Уровень 2) производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия).

Возможно использование других контрольных материалов, аттестованных данным методом и не уступающих по своим свойствам рекомендуемому.

Для калибровки фотометрических систем рекомендуется использовать калибратор из набора или мультикалибратор TruCal U производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия). Концентрация мочево́й кислоты в калибраторе из набора и в TruCal U определяется по референтному методу газовой хроматографии – масс-спектрометрии изотопного разведения (GC-IDMS).

Калибровку рекомендуем проводить в следующих случаях: при непрохождении контроля качества (в случае выхода значений контроля качества за пределы установленных диапазонов для используемого лота контрольного материала), при использовании набора новой серии.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Только для диагностики *in vitro*.
2. В Калибраторе содержится токсичный компонент – азид натрия. При работе с ним соблюдайте осторожность и не допускайте попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промойте пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании выпейте 0,5 л теплой воды и вызовите рвоту. При необходимости обратитесь к врачу.
3. Предпринимать стандартные меры предосторожности при работе с лабораторными реактивами.
4. Не использовать реагенты и контроли после истечения срока годности.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Биреагентная схема - запуск реакции субстратом.

Реагент 1, реагент 2 и калибратор готовы к использованию.

Монореагентная схема - запуск реакции образцом.

Для приготовления рабочего реагента: смешать 4 объема Реагента 1 и один объем Реагента 2. Для стабилизации компонентов раствора рабочий реагент перед использованием следует выдержать 20–30 мин при комнатной температуре (15–25°C). Рабочий реагент можно хранить при температуре 2–8°C не более 3 месяцев или при комнатной температуре (15–25°C) не более 2 недель при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения, в защищенном от света месте. Калибратор готов к использованию.

Следует тщательно закрывать флаконы с Реагентами 1 и 2 непосредственно после каждого использования, в том числе при хранении на борту автоматических биохимических анализаторов (в нерабочее время).

Лиофилизированный мультикалибратор TruCal U производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия) готовят согласно прилагаемой к каждому лоту инструкции.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Адаптации к автоматизированным системам запрашивайте дополнительно.

Компоненты реакционной смеси отбирать в количествах, указанных в таблицах.

Биреагентная схема – запуск реакции субстратом.

Отмерить, (мкл)*	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Вода дистиллированная	20	–	–
Калибратор/ мультикалибратор	–	20	–
Образец	–	–	20
Реагент 1	1000	1000	1000
Перемешать, инкубировать 5 мин при 37°C. Затем добавить:			
Реагент 2	250	250	250
Пробы тщательно перемешать и выдержать при температуре 37°C в течение 10 минут. Измерить оптическую плотность			



опытной пробы и калибровочной пробы против контрольной (холостой) пробы в кювете с длиной оптического пути 10 мм при длине волны 520 (500–550) нм.
Окраска растворов стабильна в течение 60 минут.

Монореагентная схема – запуск реакции образцом.

Отмерить, (мкл)*	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Вода дистиллированная	20	–	–
Калибратор/ мультикалибратор	–	20	–
Образец	–	–	20
Рабочий реагент	1000	1000	1000

Пробы тщательно перемешать и выдержать при температуре 37°C в течение 10 минут. Измерить оптическую плотность опытной пробы и калибровочной пробы против контрольной (холостой) пробы в кювете с длиной оптического пути 10 мм при длине волны 520 (500–550) нм.
Окраска растворов стабильна в течение 60 минут.

* Количество реагентов и анализируемых образцов может быть пропорционально изменено в зависимости от объема используемой кюветы и типа используемого биохимического анализатора (соотношение образца к рабочему реагенту составляет 1:50).

РАСЧЕТЫ

Содержание мочевины в сыворотке крови, моче (в мкмоль/л) определить по формуле:

$$C = \frac{A_{оп.}}{A_{кал.}} \times 357$$

- где: C - концентрация мочевины в опытной пробе, мкмоль/л;
 A_{оп.} - оптическая плотность опытной пробы, ед. оп. плотн.;
 A_{кал.} - оптическая плотность калибровочной пробы, ед. оп. плотн.;
 357 - содержание мочевины в калибраторе, мкмоль/л.

Содержание мочевины в моче (в ммоль/сутки) определить по формуле:

$$C = \frac{A_{оп.} \times V \times 10}{A_{кал.} \times 1000} \times 357$$

- где: C - концентрация мочевины в опытной пробе, ммоль/сутки;
 A_{оп.} - оптическая плотность опытной пробы, ед. оп. плотн.;
 A_{кал.} - оптическая плотность калибровочной пробы, ед. оп. плотн.;
 V - количество мочи, собранной за сутки, л;
 1000 - коэффициент пересчета мкмоль в ммоль;
 357 - содержание мочевины в калибраторе, мкмоль/л.
 10 - коэффициент разведения мочи.

Фактор пересчета:

Мочевая кислота [мг/дл] × 59,48 = Мочевая кислота [мкмоль/л]

СПЕЦИФИЧНОСТЬ/ПОМЕХОУСТОЙЧИВОСТЬ

Билирубин до 171 мкмоль/л (10 мг/дл) и липемия до 22,6 ммоль/л (2000 мг/дл) триглицеридов не влияют на точность анализа. Гемоглобин начинает влиять на точность анализа с концентрации 1,0 г/л (100 мг/дл), а аскорбиновая кислота даже при минимальных концентрациях. В составе набора содержатся вещества (АЛФ), устраняющие липемичность сыворотки.

ТРАНСПОРТИРОВКА, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре 2–8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается хранение наборов при температуре до 25°C не более 5 суток.

Замораживание компонентов набора не допускается.

Транспортирование должно производиться с использованием крытого грузового авто, авиа, ж/д транспорта, в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре 2–8°C. Допускается транспортирование наборов при температуре до 25°C не более 5 суток.

Изделия, транспортированные и хранившиеся с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

Срок годности набора – 18 месяцев.

Прекратить применение серии изделия по истечению срока ее годности.

При соблюдении условий хранения все компоненты набора стабильны в течение всего срока годности.

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов должны храниться в защищенном от света месте при температуре 2–8°C в течение всего срока годности набора при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения.

Калибратор после вскрытия флакона можно хранить при температуре 2–8°C в течение 3 месяцев при условии достаточной герметичности флакона.

Рабочий реагент можно хранить при температуре 2–8°C не более 3 месяцев или при комнатной температуре (15–25°C) не более 2 недель при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения, в защищенном от света месте.

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

ТРЕБОВАНИЯ ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Набор МОЧЕВАЯ КИСЛОТА ДиаВетТест не является источником опасных излучений и выделений в окружающую среду, не содержит токсичных и взрывоопасных веществ, представляющих угрозу окружающей среде и здоровью медицинского персонала, при соблюдении всех мер безопасности и утилизации набора, рекомендованных производителем.

УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ

Утилизацию после проведения исследования следует проводить в соответствии с местными правилами, принятыми для лабораторных отходов.

ИЗГОТОВИТЕЛЬ

АО «ДИАКОН-ДС», 142290, Московская область, г. Пущино, ул. Грузовая, д.1а.

Система менеджмента качества сертифицирована на соответствие требованиям: EN ISO 13485, ГОСТ ISO 13485



ПАМЯТКА ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ

Мочевая кислота – это продукт катаболизма пуриновых оснований, входящих в состав ДНК и РНК всех клеток организма. Пурины появляются в основном после естественной гибели клеток, а меньшая их часть поступает с пищей. Пурины поступают с кровью в печень, где и преобразуются в мочевую кислоту. Мочевая кислота транспортируется кровью от печени до почек, где около 70% ее фильтруется и выделяется с мочой, оставшаяся часть удаляется через желудочно-кишечный тракт. Набор реагентов (МОЧЕВАЯ КИСЛОТА ДиаВетТест) возможно использовать на различных моделях полуавтоматических и автоматических и биохимических анализаторах открытого типа. Не допускается использование набора по истечению срока годности, указанной на упаковке!

Показания к применению

Если мочевой кислоты производится слишком много или недостаточно выделяется с мочой, она накапливается в организме, вызывая гиперурикемию. Это может быть вызвано возросшей пролиферацией и гибелью клеток при онкологических заболеваниях. К недостаточному выведению мочевой кислоты обычно приводит снижение функции почек при их поражении. Результатом гиперурикемии может быть мочекаменная болезнь, атеросклероз, ишемическая болезнь сердца и другие патологические состояния. Возможно, и патологическое снижение уровня мочевой кислоты в крови, например, при патологии печени или нарушении функции реабсорбции почек.

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА

Кат. №	Состав набора, мл	Общий объем, мл
DV 786 003	Реагент 1: 2x68 Реагент 2: 2x17 Калибратор: 1x3,0	170
DV 786 004	Реагент 1: 6x68 Реагент 2: 6x17 Калибратор: 2x3,0	510

Забор образцов

1. Требования к квалификации персонала.

К выполнению исследований допускаются лица, прошедшие подготовку (лаборанты, ветеринарные фельдшера, ветеринарные врачи, химики и др.) по эксплуатации анализатора и методикам выполнения измерений.

2. Отбор проб.

2.1. Отбор крови проводят утром, до кормления животных и проведения лечебных мероприятий. «Правила взятия патологического материала, крови, кормов и пересылки их для лабораторного исследования» утв. Минсельхоз СССР 24.06.1971.

2.2. Для отбора проб крови применяют стеклянные пробирки многократного использования или системы взятия крови (СВК) по ГОСТ ISO 6710-2011.

2.2.1. Правила взятия крови при использовании вакуумных систем:

Обязательно соответствие цвета вакуумной системы и цели исследования.

Для биохимических исследований используются СВК с красной, желтой или оранжевой крышкой.

Каждая пробирка содержит определенное количество реагента для указанного на ней объема крови. Пробирки заполняются в соответствии с указанным уровнем, в пределах $\pm 10\%$ от указанного объема.

При применении СВК с красной/желтой/оранжевой маркировкой, которые содержат активаторы свертывания с биологически инертным гелем, образующие после центрифугирования барьер, отделяющий сыворотку от форменных элементов крови, что позволяет получать образцы более высокого качества и сократить время коагуляции (указывается производителем в инструкциях по применению СВК).

Внимание! Неправильное соотношение крови и реагента в пробе ведет к недостоверным результатам анализа.

Сразу после заполнения пробирку необходимо аккуратно перевернуть 4–10 раз на 180° для смешивания крови с наполнителем. Количество перемешиваний указывается в инструкции по

применению. Перемешивание необходимо проводить аккуратно, пробирку не трясти, во избежание коагуляции и гемолиза.

Внимание! В плохо перемешанной пробе образуются микросустики, приводящие к искажению результатов анализов, а также к поломкам лабораторных анализаторов.

3. Транспортировка.

Пробирки с кровью плотно закрываются пробками и в строго вертикальном положении в термоконтейнерах с хладагентом перемещаются в лабораторию. Время доставки не должно превышать 24 часа при температуре 2,0–8,0°C.

Следует избегать тряски во избежание развития гемолиза. Температура ниже 4°C и выше 30°C может существенно изменить содержание в образце многих аналитов.

4. Подготовка проб:

4.1. Получение плазмы крови.

Отобранные пробы крови переливают в центрифужные пробирки и центрифугируют 20–30 минут при 2000–3000 об/мин., отделившуюся плазму переносят в чистые сухие пробирки.

При применении СВК допускается центрифугирование непосредственно в первичной пробирке, в соответствии с инструкцией к использованию.

4.2. Получение сыворотки крови.

Сыворотка крови должна быть отделена от форменных элементов не позднее 1 часа после забора материала.

Кровь в стеклянных пробирках, в течение часа после забора, обводят тонкой спицей из нержавеющей стали диаметром 1,0–1,5 мм и ставят в термостат при температуре 37–38°C на 30 минут для окончательного отделения сыворотки. Отделившуюся сыворотку переносят в центрифужные пробирки и центрифугируют в течение 20–30 минут при 2000–3000 об/мин.

Внимание! Исследования не проводятся при:

- гемолизе, хилезе сыворотки (плазмы) крови (за исключением исследований, на которые наличие гемолиза, хилеза не влияют [6]).
- поступлении в СВК с несоответствующей маркировкой (то есть материал взят не с тем антикоагулянтом, консервантом и др.).
- наличии сгустков в пробах с антикоагулянтом.
- поступлении в СВК с истекшим сроком годности.

4.3. Получение проб мочи (суточной, утренней).

Мочу для анализа следует собирать в соответствии со стандартными процедурами для сбора мочи. Перед определением мочу необходимо развести в 10 раз дистиллированной водой и полученный результат умножить на 10

5. Хранение.

Стабильность в сыворотке:

3 дня	при 15–25°C
7 дней	при 2–8°C
до 6 месяцев	при –20°C

Загрязненные образцы хранению не подлежат!

Замораживать образцы можно не более одного раза!

Стабильность в моче:

4 дня	при 15–25°C
-------	-------------

Загрязненные образцы хранению не подлежат!

Не замораживать!

6. Возможные причины получения недостоверных результатов:

- низкое качество дистиллированной (деионизированной) воды. **Для повышения точности калибровки рекомендуется использовать высокоочищенную воду, как для приготовления контрольных сывороток, так и для самой калибровки (нулевая точка).**
- недостаточно чистая посуда. **Посуду следует мыть хромовой смесью или раствором 4M соляной кислоты в дистиллированной (деионизированной) воде, затем тщательно ополоснуть дистиллированной (деионизированной) водой.**
- загрязнение блоков кювет. **Рекомендуется регулярно проверять чистоту измерительных кювет с использованием соответствующих утилит анализатора и при необходимости проводить очистку согласно инструкции по эксплуатации на прибор.**
- несоблюдение условий хранения и эксплуатации наборов, калибраторов и стандартных сывороток. **Рекомендуется заменять реагенты, калибраторы, стандартные сыворотки.**



- технические ошибки при программировании методов на автоматических анализаторах. *Необходимо проверить соответствие параметров установленной методики с адаптациями производителя к конкретному анализатору.*

- ошибки при проведении преаналитического этапа. *Необходимо повторно произвести забор крови и выделение сыворотки (плазмы) с соблюдением установленных норм и правил.*

- ошибки при приготовлении реagensной смеси, и нарушение соотношения реagens/образец (при работе на полуавтоматических биохимических анализаторах). *Необходимо повторить смешивание.*

- недостоверные результаты при проведении контроля качества. *Необходимо провести калибровку прибора в соответствии с инструкцией по эксплуатации анализатора.*

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Образец	Нормальный диапазон, мкмоль/л
Собаки	19,0-100
Кошки	...-150
Лошади	8,5-70,0
Крупный рогатый скот (КРС)	12,0-120
Свиньи	11,0-72,0
Овцы	...-24,0
Куры	167-298

*Рекомендуем в каждой лаборатории уточнять диапазон значений нормальных величин для обследуемых животных, которые могут зависеть от различных факторов

Возможные причины изменения уровня мочевого кислоты:

Повышение уровня мочевого кислоты:

- Подагра;
- Лейкозы, миеломная болезнь, лимфома;
- Почечная недостаточность, мочекаменная болезнь;
- Длительное голодание;
- Приём лекарственных препаратов;
- Физиологическое повышение (повышенная физическая нагрузка, диета, богатая пуриновыми основаниями);
- Повышение катаболических процессов при онкологических заболеваниях;
- Пернициозная (B12 - дефицитная) анемия.

Понижение уровня мочевого кислоты:

- Приём некоторых лекарственных препаратов;
- Ксантинурия;
- Дефекты проксимальных канальцев почек;
- Низкопуриновая диета

ВНИМАНИЕ! Лабораторное исследование только этого параметра не является достаточным основанием для постановки диагноза, но может быть частью комплексного клинико-терапевтического обследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Boyd J.W. The interpretation of serum biochemistry test results in domestic animals, in Veterinary Clinical Pathology, Veterinary Practice Publishing Co., Vol. XIII, # II, 1984.
2. Кондрахин И.П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики. – М.: 2004.
3. Медведева М. А. Клиническая ветеринарная лабораторная диагностика. – М.: «Аквариум Принт», 2013–416 с.
4. Холод В.М. Справочник по ветеринарной биохимии. – В.: 2005.
5. Guder W.G., Zawta B. et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001.
6. Д. Мейер, Дж. Харви. Ветеринарная лабораторная медицина. Интерпретация и диагностика. Пер. с англ. – М.: Софион. 2007, 456 с.
7. Методические рекомендации по применению наборов реagensов «ДиаВетТест» для биохимических исследований сыворотки (плазмы) крови животных на автоматических и полуавтоматических анализаторах. – М.: ФГБУ ЦНМВЛ, Россельхознадзор, 2018.
8. I.S.I.S., Standard International Units - March 2002.

За дополнительной информацией или при рекламациях следует обращаться в ООО «ДИАВЕТ»:

142290, г. Пущино, Московской обл.

<https://diakonvet.ru/>
info@diakonvet.ru