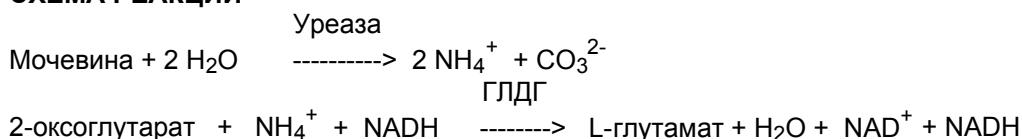


МОЧЕВИНА (UREA liqui UV)

GLDH кинетический метод

КОЛИЧЕСТВО в наборе: N по каталогу 10 521 8 x 50 мл**МЕТОД** [1,2,3]

Мочевина гидролизруется в присутствии воды и уреазы с образованием аммония и диоксида углерода. Образующийся аммоний реагирует с 2-оксоглутаратом и NADH в присутствии глутаматдегидрогеназы (ГЛДГ) с образованием глутамата и NAD^+ . Тест оптимизирован таким образом, что вторая реакция, катализируемая ГЛДГ, является лимитирующей стадией. Уменьшение оптической плотности в определенном временном интервале пропорционально концентрации мочевины в пробе. Кинетическое измерение протекает очень быстро, поэтому пользуйтесь адаптациями для разных типов анализаторов.

СХЕМА РЕАКЦИИ**СОСТАВ НАБОРА****ENZ 8 x 40 мл Ферментативный реагент**

Трис буфер (pH 7.8)	125 ммоль/л
АДФ	0,88 ммоль/л
Уреаза	≥ 20 КЕд/л
Глутаматдегидрогеназа (ГЛДГ)	≥ 0,3 КЕд/л
Азид натрия	0,095 %

SUB 8 x 10 мл Субстрат

2-оксоглутарат	25 ммоль/л
NADH	1,25 ммоль/л
Азид натрия	0,095 %

STD 1 x 3 мл Стандарт мочевины

Мочевина	13,3 ммоль/л (80 мг/дл)
Азид натрия	0,095 %

ПОДГОТОВКА И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ**Процедура 1 – двухреагентная**

Реагенты готовы к применению. После вскрытия флаконов реагенты стабильны вплоть до указанной даты при температуре хранения 2...8°C. Загрязнение реагентов должно быть абсолютно исключено.

Процедура 2 – с приготовлением рабочего реагента

Для приготовления рабочего реагента смешать ферментативный реагент **ENZ** и субстрат **SUB** в отношении 4+1 (пример: 40 мл **ENZ** + 10 мл **SUB**). Перемешать.

Рабочий реагент стабилен в течение 5 дней при температуре хранения 15...25°C или в течение 4 недель при 2...8°C.

ПРОБЫ

Сыворотка, плазма или моча. Можно использовать любой антикоагулянт кроме гепарината аммония.

Мочу развести перед началом определения в отношении 1+100 дистиллированной водой. Полученный результат умножить на 101.

УСЛОВИЯ ИЗМЕРЕНИЯ

Длина волны	: 340 нм, Hg334 нм, 365 нм
Оптический путь	: 1 см
Температура	: 25°C, 30°C, 37°C
Измерение	: против холостой пробы по реагенту. Нужна одна холостая проба на серию.
Тип измерения	: двухточечная кинетика.

СХЕМА ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Для калибровки рекомендуется использовать стандарт, поставляемый с набором.

Процедура 1 (двухреагентная)

Добавить в кюветы (мкл)	Холостая проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Стандарт	-	10	-
Проба	-	-	10
Реагент ENZ	1000	1000	1000

Перемешать, инкубировать примерно 1 минуту.

Реагент SUB	250	250	250
-------------	-----	-----	-----

Перемешать и запустить секундомер. Измерить оптическую плотность стандарта/опытной проб ровно через 30 секунд (A1) и затем ровно через 1 минуту (A2). Вычислить разность $\Delta A = (A2 - A1) - \Delta A_{хол.пробы}$.

Процедура 2 (однореагентная)

Добавить в кюветы (мкл)	Холостая проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Стандарт	-	10	-
Проба	-	-	10
Рабочий реагент	1000	1000	1000

Перемешать и запустить секундомер. Измерить оптическую плотность стандарта/опытной проб ровно через 30 секунд (A1) и затем ровно через 1 минуту (A2). Вычислить разность $\Delta A = (A2 - A1) - \Delta A_{хол.пробы}$.

ВЫЧИСЛЕНИЕ

Сыворотка, плазма:

$$C = 13,3 \times \frac{\Delta A \text{ пробы}}{\Delta A \text{ станд}} \quad [\text{ммоль/л}]$$

Моча

$$C = 13,3 \times 101 (*) \times \frac{\Delta A \text{ пробы}}{\Delta A \text{ станд}} \quad [\text{ммоль/л}]$$

13,3 ммоль/л - концентрация в стандарте. Концентрация в стандарте указывается на этикетке флакона.

(*) - коэффициент разведения мочи.

Коэффициент пересчета:

C (азота мочевины) = 0,466 x C (мочевины) C (мочевины) = 2,14 x C (азота мочевины)

ЛИНЕЙНОСТЬ МЕТОДА

Метод линеен до концентрации мочевины в сыворотке/плазме до 50,0 ммоль/л. Если содержание мочевины в пробе выше 50,0 ммоль/л, разбавьте пробу дистиллированной водой в отношении 1+1 и повторите исследование. Полученный результат умножьте на 2 (коэффициент разведения).

РЕФЕРЕНТНЫЕ ПРЕДЕЛЫ ^[4,5]

Сыворотка / плазма	10-50 мг/дл или 1,7 - 8,3 ммоль/л
Моча	20-35 г/сутки или 333 - 583 ммоль/сутки

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Все контрольные сыворотки с аттестованным для этого метода значением концентрации мочевины, могут быть использованы для контроля. Рекомендуется использовать контрольную сыворотку на основе крови животных HUMATROL или контрольную сыворотку на основе человеческой крови SERODOS фирмы HUMAN.

АВТОМАТИЗАЦИЯ

При необходимости могут быть высланы методические рекомендации для работы с Вашим автоанализатором.

ПРИМЕЧАНИЯ

1. Все реагенты содержат азид натрия в качестве консерванта. Не глотать. Избегать попадания на кожу и слизистые оболочки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kassirer, J.P., New Eng. J. Med., **285** (1971) 385
2. Talke, H., and Shubert, G.E., Klin. Wochenschr. **43** (1965) 174
3. Teitz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 676-679, W.B. Saunders Company Philadelphia (1987)
4. MacKay, E.M., and MacKay, L.L., J.Clin.Invest., **4** (1927) 295
5. Sarre, H., Nierenkrankheiten, Georg Thieme Verlag Stuttgart (1959)