



## Набор биохимических реагентов для ветеринарии

### МОЧЕВИНА ДиаВетТест

#### НАЗНАЧЕНИЕ

МОЧЕВИНА ДиаВетТест – это набор жидких, готовых к употреблению реагентов для количественного определения мочевины в сыворотке крови и моче животных и птиц уреазным-глутаматдегидрогеназным методом (УФ)

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

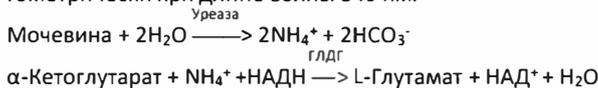
Количество определений зависит от объема фасовки реагентов и типа используемого биохимического анализатора.

#### МЕТОД

Кинетический, уреазный – глутаматдегидрогеназный УФ тест.

#### ПРИНЦИП МЕТОДА

Уреаза катализирует гидролиз мочевины с образованием аммиака и углекислого газа. При взаимодействии аммиака с α-кетоглутаратом в присутствии глутаматдегидрогеназы (ГЛДГ) происходит окисление НАДН. Скорость окисления НАДН прямо пропорциональна концентрации мочевины и измеряется фотометрически при длине волны 340 нм.



#### СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1	Буферно-ферментный раствор, pH 7,6
Реагент 2	Буферный раствор, pH 9,6
Калибратор	Калибровочный раствор мочевины 8,3 ммоль/л

Реагенты и калибраторы ДиаВетТест поставляются жидкими и готовыми к использованию.

#### АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Параметр	Значение
Линейность	2,0–70 ммоль/л
Отклонение от линейности	не более 5%
Чувствительность	не более 1,0 ммоль/л
Коэффициент вариации	не более 5%

**Примечание.** Нормальные показатели для разных животных могут варьировать в широких пределах. При содержании мочевины в сыворотке крови и моче выше 70 ммоль/л анализируемую пробу следует развести 1+1 физиологическим раствором (0,9% NaCl) и полученный результат умножить на 2.

#### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов рекомендуем проводить измерения контрольной сыворотки «Норма» (TruLab N) и контрольной сыворотки «Патология» (TruLab P) (Уреаза УФ) 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 (Уреаза УФ) производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия).

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. При работе с набором соблюдайте осторожность и не допускайте попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промойте пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.
3. Предпринимать стандартные при работе с лабораторными реактивами меры предосторожности.
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 в темном месте при температуре 2–8°C не более 1 месяца или при комнатной температуре (15–25°C) не более 5 суток при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения.

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). 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 деионизованная	10	–	–
Калибратор/ мультикалибратор	–	10	–
Образец	–	–	10
Реагент 1	1000	1000	1000
Перемешать, инкубировать 0-5 мин, затем добавить:			
Реагент 2	250	250	250
Пробы перемешать и инкубировать при температуре 37°C в течение 30 сек. Измерить оптическую плотность пробы (A <sub>1</sub> ) при длине волны 340 нм против холостой пробы, включить секундомер и через 1 минуту (точно) аналогично измерить оптическую плотность пробы (A <sub>2</sub> ). Рассчитать изменение оптической плотности в минуту (ΔA) для опытной, калибровочной и холостой пробы: ΔA = A <sub>2</sub> – A <sub>1</sub> .			



**Монореагентная схема – запуск реакции образцом.**

Отмерить, мкл*	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Вода деионизованная	10	–	–
Калибратор/ мультикалибратор	–	10	–
Образец	–	–	10
Рабочий реагент	1000	1000	1000

Пробы перемешать и инкубировать при температуре 37°C в течение 30 сек. Измерить оптическую плотность пробы (A<sub>1</sub>) при длине волны 340 нм против холостой пробы, включить секундомер и через 1 минуту (точно) аналогично измерить оптическую плотность пробы (A<sub>2</sub>).  
 Рассчитать изменение оптической плотности в минуту (ΔA) для опытной, калибровочной и холостой пробы: ΔA = A<sub>2</sub> – A<sub>1</sub>.

\* 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 1:100).

**РАСЧЕТЫ**

**Содержание мочевины в сыворотке крови (в ммоль/л) определить по формуле:**

$$C = \frac{\Delta A_{оп} - \Delta A_{хп}}{\Delta A_{кал} - \Delta A_{хп}} \times C_{кал}$$

- где: C – концентрация мочевины в опытной пробе, ммоль/л;  
 ΔA<sub>оп</sub> – изменение оптической плотности опытной пробы в мин, ед. опт. пл.;  
 ΔA<sub>кал</sub> – изменение оптической плотности калибровочной пробы в мин, ед. опт. пл.;  
 ΔA<sub>хп</sub> – изменение оптической плотности холостой пробы в мин, ед. опт. пл.;  
 C<sub>кал</sub> – концентрация мочевины в калибраторе/ мультикалибраторе, ммоль/л.

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

$$C = \frac{(A_{оп} - A_{хп}) \times V \times 100}{A_{кал} - A_{хп}} \times C_{кал}$$

- где: C – концентрация мочевины в опытной пробе, моль/сут;  
 ΔA<sub>оп</sub> – изменение оптической плотности опытной пробы в мин, ед. опт. пл.;  
 ΔA<sub>кал</sub> – изменение оптической плотности калибровочной пробы в мин, ед. опт. пл.;  
 100 – коэффициент разведения мочи;  
 V – количество мочи, собранной за сутки, л;  
 ΔA<sub>хп</sub> – изменение оптической плотности холостой пробы в мин, ед. опт. пл.;  
 C<sub>кал</sub> – концентрация мочевины в калибраторе/ мультикалибраторе, ммоль/л.

**Фактор пересчета:**

Мочевина [мг/дл] × 0,1665 = Мочевина [ммоль/л].  
 Мочевина [мг/дл] × 0,467 = Азот мочевины [мг/дл].  
 Азот мочевины [мг/дл] × 2,14 = Мочевина [мг/дл].

**СПЕЦИФИЧНОСТЬ/ПОМЕХОУСТОЙЧИВОСТЬ**

Билирубин до 40 мг/дл, гемоглобин до 500 мг/дл, аскорбиновая кислота до 30 мг/дл и липемия до 2000 мг/дл триглицеридов не влияют на точность анализа. В составе набора содержится 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.**

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.

**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 могут храниться при температуре 2–8°C в темном месте в течение всего срока годности набора при условии достаточной герметичности флакона 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 в темном месте при температуре 2–8°C не более 1 месяца или при комнатной температуре (15–25°C) не более 5 суток при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения.

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

**ТРЕБОВАНИЯ ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ**

Набор МОЧЕВИНА 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

Мочевина (NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO - химическое соединение, диамид угольной кислоты, главный конечный продукт расщепления белка. Синтезируется в печени из аминокислот в цикле Кребса с участием ферментных систем. Мочевина - осмотически активное вещество, играющее важную роль в механизмах концентрирования мочи. Выводится мочевина преимущественно почками. Уровень её в крови обусловлен соотношением процессов образования и выведения. Мочевина в норме составляет до 70% от общего остаточного азота плазмы крови млекопитающих. Набор реагентов (МОЧЕВИНА 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

Уровень мочевины в сыворотке крови повышается при почечной недостаточности, нарушении оттока мочи, усиленном распаде белков, обезвоживании организма, сердечно-сосудистых заболеваниях. Пониженный уровень мочевины в плазме крови указывает на нарушение функции печени. У молодых животных раннего возраста, при беременности (в связи с повышенным синтезом белка) уровень мочевины несколько снижен по сравнению с нормой для взрослых.

### ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА

Кат. №	Состав набора, мл	Общий объем, мл
DV 787 003	Реагент 1: 2x68 Реагент 2: 2x17 Калибратор: 1x3,0	170
DV 787 004	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 многоразового использования или системы взятия крови (СВК) по ГОСТ ISO 6710-2011.

#### 2.2.1. Правила взятия крови при использовании вакуумных систем:

Обязательное соответствие цвета вакуумной системы и целей 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 ±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 микросгустки, 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 влияет [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 (свежей)).

Перед определением развести дистиллированной водой 1+99 и полученный результат умножить на 100.

### 5. Хранение.

#### 5.1 Стабильность в сыворотке:

7 дней	при 15–25°C
7 дней	при 2–8°C
1 год	при –20°C

**Загрязненные образцы хранению не подлежат!**

**Замораживать образцы можно не более одного раза!**

#### 5.2 Стабильность в моче:

4 дня	при 15–25°C
7 дней	при 2–8°C
1 месяц	при –20°C

**Загрязненные образцы хранению не подлежат!**

**Замораживать образцы можно не более одного раза!**

### 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 реагентной смеси, и нарушение соотношения реагент/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, ммоль/л
Собаки	3,5-9,2
Кошки	5,4-12,1
Лошади	3,7-6,3
Крупный рогатый скот (КРС)	2,8-8,8
Свиньи	3,7-6,4
Овцы	6,4-11,1

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

## Возможные причины изменения уровня мочевины:

### Повышение уровня мочевины:

- Почечная ретенционная азотемия: гломерулонефрит; амилоидоз почек; пиелонефрит; приём нефротоксичных препаратов (тетрациклина);
- Внепочечная ретенционная азотемия: сердечная недостаточность; сильные кровотечения; шок; кишечная непроходимость; ожоги; нарушение оттока мочи (опухоль мочевого пузыря, аденома простаты, камни в мочевом пузыре); дегидратация;
- Продукционная азотемия: кахексия; лейкоз; злокачественные опухоли; приём глюкокортикоидов; андрогенов; лихорадочные состояния; усиленная физическая нагрузка.

### Понижение уровня мочевины:

- Нарушение функции печени: гепатит; цирроз; печёночная кома; острая гепатодистрофия;
- Отравление фосфором, мышьяком;
- Беременность;
- Акромегалия; мальабсорбция; гипергидратация.

**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. Хлод 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 реагентов «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.