

«ПОГОДЖЕНО»

Перший заступник голови Державної
служби України з лікарських засобів

09 листопада 2012 р.

І.Б. Демченко

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар клінічної лікарні „Феофанія”
Державного управління справами

30 жовтня 2012 р.

І.П. Семенів

REF HP018.02

ТУ У 24.4-24607793-018-2003

**ІНСТРУКЦІЯ ДО НАБОРУ РЕАКТИВІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ
СЕЧОВИНИ У БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ УРЕАЗНИМ МЕТОДОМ
(BERTHELOT) (“СЕЧОВИНА-У”)**

IVD

УВАГА! НАБІР МОДИФІКОВАНИЙ! ВЕЛИЧИНИ ОПТИЧНОЇ ЩІЛЬНОСТІ ЗНАЧНО НИЖЧІ!!!!

ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір призначений для визначення концентрації сечовини у сечі та сироватці крові людини в клініко-діагностичних, біохімічних лабораторіях і науково-дослідницькій практиці.

Набір розрахований на **190 мікрОВИЗНАЧЕНЬ** (при витраті розчинів реагентів 2 мл на визначення) або **90 макрОВИЗНАЧЕНЬ** (при витраті розчинів реагентів 4 мл на визначення) сечовини, з **УРАХУВАННЯМ ХОЛОСТИХ І КАЛІБРУВАЛЬНИХ ПРОБ.**

Діапазон визначаємих концентрацій - від 1 ммоль/л до 17 ммоль/л.

Коефіцієнт варіації визначення - не більше 5 %.

Зберігання набору - при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С.

Гарантійний термін придатності набору - 24 місяця від дня виготовлення.

Набір призначений для застосування *in vitro* професійно навченим лаборантом.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Сечовина піддається уреазному гідролізу з утворенням аміаку і вуглекислого газу. Аміак, що виділився, реагує з гіпохлоритом і саліцилатом з утворенням розчину зеленого кольору. Збільшення оптичної щільності реакційного розчину при **(560 - 580) нм** пропорційно концентрації сечовини в зразку.

СКЛАД НАБОРУ

1. Буферний розчин - 2 флакони по (100 ± 2) мл
 - фосфатний буфер (120 ± 6) ммоль/л;
 - саліцилат натрію (60 ± 3) ммоль/л;
 - нітропрусид натрію (5,0 ± 0,2) ммоль/л;
 - ЕДТО кислота (1,00 ± 0,05) ммоль/л;
2. Гіпохлоритний реагент - 2 флакони з (100 ± 2) мл
 - гіпохлорит натрію (10,0 ± 0,5) ммоль/л;
 - гідроокис натрію (0,40 ± 0,02) моль/л;
3. Калібрувальний розчин сечовини - 1 флакон з (5,0 ± 0,5) мл
 - сечовина (10,0 ± 0,5) ммоль/л або (60,0 ± 1,8) мг/100 мл
 - у перерахуванні на азот сечовини (4,67 ± 0,10) ммоль/л або (28,0 ± 1,4) мг/100 мл;
4. Уреаза концентрат 5 кЕ/мл - 2 пробірки по (0,50 ± 0,05) мл.

ОБЛАДНАННЯ

1. Фотометричне обладнання, яке здатне вимірювати оптичну щільність розчинів при довжині хвилі **570 (560-580) нм** у діапазоні (0-1,0) од. опт. щільності та довжині оптичного шляху 10 мм або 5 мм (тільки для концентрацій більше ніж 5 ммоль/л).
2. Пробірки місткістю 20 мл (ГОСТ 1770-74).
3. Піпетки місткістю 0,1 і 5 мл (ГОСТ 29227-91).
4. Водяний термостат або автоматична водяна баня, що підтримують температуру плюс (37 ± 1) °С (у випадку проведення аналізу при цій температурі).

УВАГА! НАБІР МОДИФІКОВАНИЙ! ВЕЛИЧИНИ ОПТИЧНОЇ ЩІЛЬНОСТІ ЗНАЧНО НИЖЧІ!!!!

ЗРАЗОК

Сироватка, плазма (виключити гепаринат амонію, великі кількості фторидів – дезактивують уреазу), сеча. Не використовувати ліпімічні сироватки. Сечовина стабільна до 5 діб при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С.

Сеча. Сечу необхідно розвести в 100 разів дистильованою водою. Сечовина стабільна до 3 діб при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С.

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

- 1. Ензимний реагент.** У флакон із буферним розчином додають вміст **однієї** пробірки з **концентратом уреазу**, ретельно перемішують. Перед аналізом витримують **2 години** при температурі від плюс 15 °С до плюс 25 °С. Розчин стійкий протягом **4 тижнів** при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С, протягом **5 діб** при температурі від плюс 15 °С до плюс 25 °С і зберіганні у темному місці (світлочутливий).
- 2. Гіпохлоритний реагент** - готовий до роботи, світлочутливий.
- 3. Калібрувальний розчин сечовини** - готовий до роботи.
- 4. Реагенти 1-4** стабільні після першого розкриття оригінальної упаковки протягом **6 тижнів** при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С, протягом **2 тижнів** при температурі від плюс 15 °С до плюс 25 °С.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

УВАГА! НАБІР МОДИФІКОВАНИЙ! ВЕЛИЧИНИ ОПТИЧНОЇ ЩІЛЬНОСТІ ЗНАЧНО НИЖЧІ!!!!

Аналіз проводять у відповідності зі схемою, наведеною в таблиці 1

Таблиця 1

Відміряти у пробірку, мл	Мікроаналіз		Макроаналіз	
	Дослідна або калібрувальна проба	Холоста проба	Дослідна або калібрувальна проба	Холоста проба
Біологічна рідина чи калібрувальний розчин	0,01	-	0,02	-
Ензимний реагент	1,00	1,00	2,00	2,00
Змішують, інкубують 15 хв при температурі від плюс 20 °С до плюс 25 °С або 5 хв при температурі плюс 37 °С.				
Гіпохлоритний реагент	1,00	1,00	2,00	2,00
Змішують, інкубують 10 хв при температурі від плюс 20 °С до плюс 25 °С або 5 хв при температурі плюс 37 °С. Вимірюють оптичну щільність дослідної проби ($E_{\text{досл}}$) і калібрувальної проби ($E_{\text{кал}}$) проти холостої проби . Остаточне забарвлення стабільне протягом 60 хв . Фотометрування - див. розділ «Обладнання».				

Витрату реактивів можна масштабувати, виходячи з постійного співвідношення

Ензимний реагент : Гіпохлоритний реагент : Аналізуємий розчин = 100 : 100 : 1

РОЗРАХУНОК КОНЦЕНТРАЦІЇ

Розрахунок концентрації сечовини або азоту сечовини проводять відповідно до таблиці 2.

Таблиця 2

Концентрація =	Сечовина		Азот сечовини	
	мг/100 мл	ммоль/л	мг/100 мл	ммоль/л
для сироватки чи плазми				
$\frac{E_{\text{досл}}}{E_{\text{кал}}} \times$	60	10	28	4,67
для сечі	г/л	ммоль/л	г/л	ммоль/л
$\frac{E_{\text{досл}}}{E_{\text{кал}}} \times$	60	1000	28	467

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для контролю ходу реакції і процедури вимірювання рекомендується використовувати контрольні сироватки із значеннями, визначеними даним методом. Наприклад: «Ліонорм» (Чехія), «Біоконт С» (Росія), "ФілоНорм" або „ФілоПат” (Україна).

Кожна лабораторія повинна встановити власну внутрішню систему контролю якості.

НОРМАЛЬНІ ВЕЛИЧИННИ⁴⁾

- в сироватці крові:

Таблиця 3

Вікові категорії, років	Кількість сечовини (ммоль/л)
Кров з пуповині	(7,5 – 14,3)
Недоношені (< 1 тижня)	(1,1 – 8,9)
Недоношені (< 1 року)	(1,4 – 6,8)
Новонароджені/діти	(1,8 – 6,4)
18-60	(2,1 – 7,1)
60-90,	(2,9 – 8,2)
> 90	(3,6 – 11,1)

- у сечі - (430 - 710) ммоль/добу.

Дані величини орієнтовні, рекомендується визначення власних нормальних величин в кожній лабораторії.

ЛІНІЙНІСТЬ

Сироватка або плазма: до 102 мг/100 мл або 17 ммоль/л (сечовина)

Сеча: до 102 г/л або 1700 ммоль/л (сечовина).

Зразки з більш високою концентрацією сечовини необхідно розвести 1:1 дистильованою водою. Отриманий результат потрібно помножити на 2.

ІНТЕРФЕРЕНЦІЯ

1. Ліпемія (тригліцериди 10 г/л), гемоглобін до 2 г/л та білірубін до 100 мг/л не заважають визначенню сечовини.
2. Підвищений вміст аміаку впливає на результат. Інші лікарські препарати і субстанції (кортикостероїди, нефротоксичні лікарські препарати, тетрациклін, надлишок тироксину, СТГ) можуть впливати на результат⁶⁾ (цитрат натрію, фторид натрію (у високих концентраціях); хлорамфенікол, стрептоміцин).

ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Сечовина синтезується в печінці як продукт дезамінування амінокислот. Елімінація сечовини є основним шляхом екскреції азоту.

Підвищена концентрація сечовини виявляється в наступних випадках: порушення функції нирок: зниження ниркової перфузії (застійна серцева недостатність, виснаження запасів солей і води при блювоті, проносі, підвищеному діурезі або потовиділенні); шок; у поєднанні з підвищеним катаболізмом білка (шлунково-кишкова кровотеча, гострий інфаркт міокарду, стрес, опіки), гострі або хронічні інтерстиціальні захворювання нирок, обтурація сечових шляхів, дієта з високим вмістом білка.

Зниження концентрації сечовини викликають: дієта з низьким вмістом білка і високим – вуглеводів, підвищена утилізація білка для синтезу (у пізні терміни вагітності, у дітей у віці до 1 року, при акромегалії), парентеральне харчування, важкі захворювання печінки, отруєння ліками, порушення всмоктування (целиакія).

УВАГА! НАБІР МОДИФІКОВАНИЙ! ВЕЛИЧИНИ ОПТИЧНОЇ ЩІЛЬНОСТІ ЗНАЧНО НИЖЧІ!!!!

Діагностична цінність сечовини, як показника функціонування нирок, обмежена у зв'язку з варіабельністю її концентрації в плазмі, із-за впливу позаниркових чинників^{5,7}.

Клінічний діагноз повинен встановлюватися на основі інтеграції клінічних і лабораторних даних.

ЗАСТЕРЕЖНІ ЗАХОДИ

1. При роботі використовувати гумові рукавички, заборонено їсти, пити, курити.
2. Гіпохлоритний реагент містить гіпохлорит натрію в сильно лужному середовищі. Реагент має дратівну дію для очей, шкіри і слизових оболонок. Якщо реагент потрапив в очі, на шкіру або слизові оболонки, його необхідно змити великою кількістю води. Постраждалому має бути надана кваліфікована медична допомога.

УТИЛІЗУВАННЯ

Всі зразки для аналізу вважають за матеріал, який може бути інфікований, і спільно з можливими залишками реактивів підлягає знищенню відповідно до затверджених внутрішньолікарняних правил.

Паперову упаковку здайте в макулатуру, виполоскану тару - в сортоване сміття.

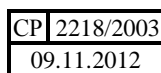
ПРИМІТКА

УВАГА! НАБІР МОДИФІКОВАНИЙ! ВЕЛИЧИНИ ОПТИЧНОЇ ЩІЛЬНОСТІ ЗНАЧНО НИЖЧІ!!!!

Рекомендується вимірювати оптичну щільність розчинів при довжині оптичного шляху 5 мм тільки для концентрацій більше ніж 5 ммоль/л.

ЛІТЕРАТУРА

1. Berthelot M., Report Chem. Applique **1**, 284 (1859).
2. Fawcett J.K., Scott J.E., J. Clin. Path. **13**, 156 (1960).
3. Tobacco A. et al., Clin. Chem. **25** (2), 336 (1979).
4. Энциклопедия клинических лабораторных тестов, под редакцией Н.У. Тица, стр. 335-336, «Лабинформ», Москва, 1997.
5. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1999.
6. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACCC Press, 1997.
7. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACCC Press, 1997.



ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика»,
Україна, 49051 Дніпропетровськ, вул. Каштанова, 32
Тел./факс: (056) 747-47-76, 747-45-34
Тел.: (093) 573-75-35, (067) 535-15-73, (095) 168-36-54
E-mail: felicit_d@ua.fm <http://www.felicit.com.ua>