

«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 № HP017.02

ТУ У 24.4-24607793-018-2003

ІНСТРУКЦІЯ ДО НАБОРУ РЕАКТИВІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ СЕЧОВОЇ КИСЛОТИ У БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ ЕНЗИМАТИЧНИМ КОЛОРИМЕТРИЧНИМ МЕТОДОМ



ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір призначений для визначення концентрації сечової кислоти у сироватці крові і сечі людини ензиматичним колориметричним методом в клініко-діагностичних і біохімічних лабораторіях і науково-дослідницькій практиці.

Набір розрахований на **12 макро-, 25 напівмікро- чи 50 мікрровизначень** сечової кислоти (з урахуванням холостих та калібрувальних проб) (Див. *Примітку 3*).

Діапазон визначасмих концентрацій – від 4 мкмоль/л до 1150 мкмоль/л.

Коефіцієнт варіації визначення - не більше 5 %.

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

Гарантійний термін придатності набору - 12 місяців від дня виготовлення.

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

ПРИНЦИП МЕТОДА

сечова кислота + 2H₂O + O₂ —*урикази*—> *алантоїн* + CO₂ + 2H₂O₂;

H₂O₂ + 4-амінофеназон + 3,5-діхлоро-2-фенолсульфонат—*пероксидаза*—> *хінонімін* + 4 H₂O.

Концентрацію хіноніміну визначають фотометрично при довжині хвилі **520 нм**, інтенсивність забарвлення якого пропорційна концентрації сечової кислоти у дослідному зразку.^{1,2)}

СКЛАД НАБОРУ

- Буферно-хромогенний розчин - 1 флакон з (40 ± 2) мл;
 - фосфатний буфер (рН 7,4) - (0,05 ± 0,01) моль/л,
 - 3,5 -діхлоро-2-фенолсульфонат – (4,00 ± 0,05) ммоль/л;
 - стабілізатори, активатори.
- Розчин ензимів - 1 флакон з (10,0 ± 0,5) мл;
 - пероксидаза (660 ± 30) МОд/л,
 - урикази (60 ± 2) МОд/л;
 - 4-амінофеназон (1,00 ± 0,05) ммоль/л;
- Калібрувальний розчин сечової кислоти - 1 мікропробирка з (1,0 ± 0,1) мл;
(357 ± 7) мкмоль/л

ЗРАЗОК

Сироватка крові, ЕДТО або гепаринізована **плазма крові**, вільні від гемолізу. Зразки стабільні при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С від 3 до 7 діб.

Сеча, - добова, (не охолоджувати), розведена дистильованою водою в 10 разів. Зберігати при температурі від плюс 20 °С до плюс 25 °С не більше 4 діб при попередньому доведенні рН > 8,0 гідроксидом натрію. **Не зберігайте в холодильнику.**

ОБЛАДНАННЯ

- Фотометричне обладнання, яке здатне вимірювати оптичну щільність розчинів при довжині хвилі **520 (500-550) нм** у діапазоні (0-1,0) од. опт. щільності та довжині оптичного шляху 10 мм.
- Пробірки місткістю 10 мл (ГОСТ 1770-74).
- Піпетки місткістю 0,1; 1, 5 мл (ГОСТ 29227-91).
- Водяний термостат або автоматична водяна баня, здатні підтримувати температуру (плюс 37 ± 1) °С (у випадку проведення аналізу при цій температурі)

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

1. Для приготування МОНОРЕАГЕНТУ змішують **Буферно-хромогенний розчин і Розчин ензимів** в співвідношенні **4:1**. Отриманий розчин стійкий не менше 7 днів при зберіганні в ємності з темного скла і температурі від плюс 20 °С до плюс 25 °С або 2 тижнів при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С у темному місці (світлочутливий). При зберіганні розчину допускається зміна його забарвлення до слабо-рожевого кольору, що не впливає на результат аналізу. Величина оптичної щільності МОНОРЕАГЕНТУ проти води при довжині хвилі 546 нм не повинна перевищувати 0,3.

2. **Калібрувальний розчин сечової кислоти** - готовий до роботи. Після розкриття реактив зберігають у холодильнику протягом всього терміну придатності набору. При зберіганні у темряві в герметичній ємності розчин стійкий. Після використання реактиву для аналізу НЕГАЙНО закрийте флакон, щоб уникнути випаровування або контамінації реактиву.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Аналіз проводиться у відповідності зі схемою, наведеною в таблиці 1.

Таблиця 1

Відміряти у пробірку, мл	Дослідна проба			Калібрувальна проба			Холоста проба		
	макро	напів-мікро	мікро	макро	напів-мікро	мікро	макро	напів-мікро	мікро
Сироватка (плазма), розведена сеча	0,08	0,04	0,02	-	-	-	-	-	-
Калібрувальний розчин сечової кислоти	-	-	-	0,08	0,04	0,02	-	-	-
МОНОРЕАГЕНТ	4,00	2,00	1,00	4,00	2,00	1,00	4,00	2,00	1,00
Дистильована вода	-	-	-	-	-	-	0,08	0,04	0,02

Перемішати, витримати у термостаті при плюс 37 °С протягом **(10 ± 1) хв** або інкубувати **(30 ± 1) хв** при кімнатній температурі (від плюс 15 °С до плюс 25°С), виміряти оптичну щільність дослідної проби ($E_{\text{досл}}$) і калібрувальної проби ($E_{\text{кал}}$) **проти холостої проби**. Забарвлення стабільне протягом **(60 ± 2) хв**.

Фотометрування - див. розділ «Обладнання».

РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Розрахунок концентрації сечової кислоти у пробі проводять за формулою (1):

$$C = \frac{E_{\text{досл}}}{E_{\text{кал}}} \times 357, \text{ де} \quad (1)$$

C - концентрація сечової кислоти в пробі, мкмоль/л;

357 - концентрація сечової кислоти у калібрувальному розчині, мкмоль/л;

$E_{\text{досл}}$ - оптична щільність дослідної проби, од. опт. щільності;

$E_{\text{кал}}$ - оптична щільність калібрувальної проби, од. опт. щільності.

Для розрахунку концентрації сечової кислоти в сечі отримане значення (C) необхідно помножити на коефіцієнт розведення - 10.

У добовій сечі проводять за формулою (2):

$$M = C \cdot V \text{ (мкмоль /доба)} \quad , \quad (2)$$

де V – об'єм добової сечі, л.

M – вміст сечової кислоти, мкмоль /доба

НОРМАЛЬНІ ВЕЛИЧИНИ ⁷⁾

Сироватка крові

- Діти, <12 років:	119 – 327 мкмоль/л	(2,0 – 5,5 мг/100 мл)
- Дорослі:	Ч: 262 – 452 мкмоль/л	(4,4 – 7,6 мг/100 мл)
-	Ж: 137 – 393 мкмоль/л	(2,3 – 6,6 мг/100 мл)
- 60-90 років,	Ч: 250 – 476 мкмоль/л	(4,2 – 8,0 мг/100 мл)
-	Ж: 208 – 434 мкмоль/л	(3,5 – 7,3 мг/100 мл)
- > 90 років,	Ч: 208 – 494 мкмоль/л	(3,5 – 8,3 мг/100 мл)
-	Ж: 131 – 458 мкмоль/л	(2,2 – 7,7 мг/100 мл)

Сеча - Дієта

- У середньому,	1,48 – 4,43 ммоль/добу	(250 – 750 мг/добу)
-----------------	------------------------	---------------------

Виробник залишає за собою право вносити зміни без попереднього повідомлення. Дата останньої перевірки **10.03.2017**

- без вмісту пуринів, Ч: < 2,48 ммоль/добу (< 420 мг/добу)
- Ж: Незначно менше
- з вмістом невеликої кількості пуринів,
- Ч: < 2,83 ммоль/добу (< 480 мг/добу)
- Ж: < 2,36 ммоль/добу (< 400 мг/добу)
- з вмістом великої кількості пуринів < 5,90 ммоль/добу (< 1000 мг/добу)

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

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.

ДІАГНОСТИЧНА ІНФОРМАЦІЯ ⁷⁾

1. Сироватка (плазма) крові:

Підвищений рівень може бути пов'язаний з:

Подагрою, нирковою недостатністю, лейкомією, мієломною хворобою, поліцитемією, лімфомою, іншими диссемінованими пухлинами, токсикозами вагітних, псоріазом, глікогенозом I типу, синдромом Леша-Ніхена, синдромом Дауна, полікістозом нирок, хронічною свинцевою нефропатією.

Знижений рівень може бути пов'язаний з:

Хворобою Вільсона-Коновалова, синдромом Франконі, хворобою Ходжкіна, мієломною хворобою, бронхогенним раком, ксантинуриєю, синдромом патологічної секреції антидіуретичного гормону, недостатністю аденозиндеамінази, пуринів, а також нуклеозидфосфорілази, дієтою бідною пуринами.

2. Сеча добова:

Підвищений рівень може бути пов'язаний з:

Подагрою, лейкомією, синдромом Леша-Ніхена, хворобою Вільсона-Коновалова, цистинозом, вірусним гепатитом, істинною поліцитемією, серповидноклітинною анемією.

Знижений рівень може бути пов'язаний з:

Ксантинуриєю, дефіцитом фолієвої кислоти, свинцевою інтоксикацією.

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

ІНТЕРФЕРЕНЦІЯ

1. Ліпемія (тригліцериди 20 г/л), гемоглобін до 1 г/л та білірубін до 100 мг/л не заважають визначенню.
2. Аскорбінова кислота в будь-якій кількості заважає визначенню.
3. На хід визначення також можуть робити вплив деякі ліки і речовини (наприклад: ацетамінофен, N-ацетилцістеїн (NAC), метамізол приводять к одержанню фальшиво занижених результатів).^{3,4)}
4. Фармацевтичні речовини, що викликають збільшення рівня сечової кислоти в пробі:⁴⁾
 - β-Адреноблокатори (наприклад, атенолол, пропранолол, надолол, тимолол), цис-платина, кортикостероїди (при гострій лейкомії), циклоспорин, діазоксид, діданозин, діуретики (ацетазоламід, хлорталідон, етакринова кислота (перорально), квінетазон (в/в), фуросемід (перорально), тіазиди, триамтерен), епінефрін, етанол, етамбутол, філграстим, фруктоза (в/в), нікотинова кислота (у великих дозах), норепінефрін, піразинамід, саліцилати (у малих дозах), деякі протипухлинні засоби (наприклад, флюдарабін, гідроксимочевина, ідарубіцин, мехлоретамін), теофілін (в/в).
5. Фармацевтичні речовини, що викликають зменшення рівня сечової кислоти в пробі:⁴⁾
 - Ацетогексамід, алопуринол, азатіоприн, бісгідроксикумарин, хлорпротиксен, клофібрат, контрастні засоби (діатризоат, йодіпамід, йопаноева кислота, йоподат), етакринова кислота (в/в), фенофібрат, фенопрофен, фуросемід (в/в), кваіфенезин, халофенат, фенілбутазон (ослаблений ефект), пробенецид, саліцилати (у великих дозах), тинілієва кислота.
 - Метод з використанням урикази: аспірин.

ЗАСТЕРЕЖНІ ЗАХОДИ

1. При роботі використовувати гумові рукавички, заборонено їсти, пити, курити.

ПАРАМЕТРИ ПРОГРАМУВАННЯ

Найменування набору реактивів	<i>Сечова кислота Ф</i>
Тип аналізатора (напівавтомат/автомат)	будь-який
Метод виміру	КТ
Зміна оптичної щільності	Збільшується
Довжина хвилі, нм	520 (500-550)
Вимір проти	Холостої проби
Температура реакції, °С	37
Чинник	-
Концентрація стандарту	357
Співвідношення реагент/проба (мкл/мкл)	1000 : 20
Кількість вимірів, не менше	1
Час передінкубації, с	-
Час реакції, с	600
Одиниці виміру	мкмоль/л
Верхня межа абсорбції контрольної проби, А	2,0
Нижня межа абсорбції контрольної проби, А	0,00
Максимально допустиме $\Delta E/xv$, А	-
Межі лінійності	4-1150
Максимум норми	-
Мінімум норми	-
Підтвердження лінійності (так/ні)	ні

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.

ПРИМІТКИ

1. Якщо концентрація проби вище 1150 мкмоль/л, її розводять фізіологічним розчином (0,9% хлориду натрію) **1 : 1**. Результат перемножують на коефіцієнт розведення (**2**).
2. Їжа, багата пуринами (печінка, нирки), а також важка фізична робота може викликати підвищення рівня сечової кислоти.
3. **Розраховано при витраті розчинів реагентів 1,0 мл (мікро-), 2,0 мл (напівмікро-), 4,0 мл (макро-). Витрату реактивів можна масштабувати, відповідно до аспіраційного об'єму кювети аналізатора, виходячи з постійного співвідношення:**

МОНОРЕАГЕНТ : Аналізуємий розчин = 1000 : 20

ЛІТЕРАТУРА

1. Schultz A Uric acid Kaplan A et al Clin Chem The C V Mosby Co St Louis Toronto Princeton 1984, 1261 – 1266 and 418
2. Fossati P, Prencipe L, Berti G. Use of 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonicacid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine Clin Chem 1980; 26:227-231
3. Young DS Effects of drugs on Clinical lab.Tests 4th ed AACC Kyselina močová a jej soli sú konečnými produktami metabolizmu purínu. Press 1995
4. Young DS Effects of disease on Clinical lab.Tests 4th ed AACC 2001
5. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry 3rd ed AACC 1999
6. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests 3rd ed AACC 1995
7. Энциклопедия клинических лабораторных тестов, под редакцией Н.У. Тица, стр. 335-337, «Лабинформ», Москва, 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>