Код за НК 024:2023 - 53587 *ТУ У 20.5-24607793-025:2019*

ІНСТРУКЦІЯ ДО НАБОРУ РЕАКТИВІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ СЕЧОВИНИ У БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ КІНЕТИЧНИМ УРЕАЗНИМ МЕТОДОМ (“СЕЧОВИНА UV”)

IVD

ПРИЗНАЧЕННЯ

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

Набір розрахований (з **урахуванням холостих та калібрувальних проб)** на відповідну кількість визначень сечовини (Див. ***Примітку 5***).

REF	мікро	напівмікро	макро	REF	мікро	напівмікро	макро
HP018.06	100	50	25	*HP018.07*	300	150	75
HP018.08	600	300	150	*HP018.09*	1000	500	250

Діапазон визначаємих концентрацій – від 0,2 ммоль/л до 88,0 ммоль/л (Див. ***Примітку 2***).

Коефіцієнт варіації визначення - не більше 5 %.

Чутливість [8] на 0,001 од. оптичної щільності – не більше 0,15 ммоль/л (340 нм).

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*** тільки кваліфікованим лабораторним персоналом.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Сечовина в зразках піддається уреазному гідролізу з утворенням аміаку і вуглекислого газу. Аміак, що виділився, взаємодіє з NADH, за допомогою реакцій, описаних нижче. Зменшення концентрації NADH (інтенсивність утворюємого забарвлення, яка вимірюється при довжині хвилі 340 нм), пропорційнє до концентрації сечовини в зразку [1,2].

$$\text{Сечовина} + H_2O \xrightarrow{\text{Уреаза}} 2NH_4^+ + CO_2$$

$$NH_4^+ + NADH + H^+ + \text{2-оксоглутарат} \xrightarrow[\text{Дегидрогеназа}]{\text{Глутамат}} \text{Глутамат} + NAD^+$$

СКЛАД НАБОРУ

1. Ензимний реагент pH 7.85 ± 0,1
   - TPIC (80 ± 4) ммоль/л
   - 2-оксоглутарат (6,0 ± 0,3) ммоль/л
   - Уреаза 75 кМО/л
   - стабілізатори, активатори.

   HP018.06 *- 1 флакон з (80 ± 2) мл;*
   HP018.07 *- 3 флакони по (80 ± 2) мл;*
   HP018.08 *- 4 флакони по (120 ± 2) мл;*
   HP018.09 *- 8 флаконів по (100 ± 2) мл;*
2. Субстратний реагент
   - NADH (0,320 ± 0,016) ммоль/л
   - глутаматдегідрогеназа 60 кМО/л
   - стабілізатори, активатори.

   HP018.06 *- 1 флакон з (20,0 ± 1,0) мл;*
   HP018.07 *- 3 флакони по (20,0 ± 1,0) мл;*
   HP018.08 *- 1 флакон з (120 ± 2) мл;*
   HP018.09 *- 2 флакони по (100 ± 2) мл;*
3. Калібрувальний розчин сечовини
   - сечовина (10,0 ± 0,5) ммоль/л
   - у перерахунку на азот сечовини (4,67 ± 0,10) ммоль/л

   HP018.06, ***HP018.07***, ***HP018.08***, ***HP018.09***
   - 1 флакон з (5,0 ± 0,5) мл

ОБЛАДНАННЯ

1. Фотометричне обладнання, яке здатне вимірювати оптичну щільність розчинів при довжині хвилі ***340*** нм у діапазоні (0 - 1,0) од. опт. щільності та довжині оптичного шляху 10 мм **(Можливо використання автоматичного аналізатора. Інструкція для автоматичного аналізатора висилається за замовленням споживача).**
2. Піпетки місткістю 0,01, 0,1 та 5 мл (ДСТУ EN ISO 835:2018).
3. Водяний термостат або автоматична водяна баня, що підтримують температуру плюс (25 ± 1) ºС або плюс (37 ± 1) ºС (у випадку проведення аналізу при цій температурі).

Набори повинні транспортуватися при температурі від + 2 °С до + 25 °С усіма видами критого транспорту. Допускається транспортування при температурі до + 25°С до 3-ох діб.

ЗРАЗОК

Сироватка або гепаринізована плазма (виключити гепаринат амонію, великі кількості фторидів – дезактивують уреазу). Не використовувати мутні, ліпімічні сироватки. Досліджувані сироватки або плазми повинні бути ретельно відокремлені від формених елементів крові не пізніше, ніж через 1 годину після взяття крові.

Сечовина стабільна до 5 діб при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С. **УНИКАТИ ГЕМОЛІЗУ!**

Сеча. Збирають сечу без використання консервантів. Сечу необхідно розвести в 50 разів дистильованою водою. Зберігайте зразки сечі при pH <4. Сечовина стабільна до 3 діб при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С.

Центрифугують зразки, що містять осад, перед виконанням аналізу.

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

1. **Монореактив** - змішати 4 частини **Ензимного реагенту** з 1 частиною **Субстратного реагенту**. Стабільність **Монореактива:** 1 місяць при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С (Див. ***Примітку 1***). Ретельно закривайте флакони безпосередньо після кожного використання реактивів. **Розчин *світлочутливий***. ***Не заморожувати***. Мінімальна екстинкція **Монореактиву** проти **води при 340 нм - 1,0** од. опт. щільності.
2. **Калібрувальний розчин сечовини** - готовий до роботи і стабільній до закінчення терміну придатності і не менше місяця після відкриття флакону за умови збереження при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Перед початком реакції кювету і розчини нагріти до необхідної температури протягом ***5 хв***. При вимірюванні оптичної щільності потрібно підтримувати постійну температуру (± 1 °С).

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

Таблиця 1

Температура	плюс 25 °С			плюс 37°С		
Піпетувати, мкл	**макро**	*напівмікро*	мікро	**макро**	*напівмікро*	мікро
Монореактив	**4000**	*2000*	1000	**4000**	*2000*	1000
Інкубувати 5 хв, потім додати						
Зразок або Калібрувальний розчин сечовини	**40**	*20*	10	**40**	*20*	10

В обох випадках ретельно перемішайте та через **30 сек** зчитуйте екстинкцію (E_1) по відношенню до **повітря або дистильованої води**. Потім зчитуйте екстинкцію (E_2) ще через ***60*** **сек** по відношенню до **повітря або дистильованої води**. Розрахуйте змінення екстинкції (ΔE) для **дослідної та калібрувальної проби**.

$$\Delta E = (E_2 - E_1)$$

Розрахунок концентрації сечовини проводять за формулою (1):

$$C = \frac{\Delta E_{досл.}}{\Delta E_{кал}} \times 10{,}0 \times K \qquad \text{ммоль/л, де:} \qquad (1)$$

С - концентрація сечовини в біологічній рідині, ммоль/л;

$\Delta E_{досл.}$ - оптична щільність дослідної проби, од. оптичної щільністі;

10,0 - концентрація сечовини в калібрувальній пробі, ммоль/л;

$\Delta E_{кал}$ - оптична щільність калібрувальної проби, од. оптичної щільності;

К - коефіцієнт розведення, для сечі (50) .

ПЕРЕРАХУНОК

Азот сечовини (ммоль/л) = Сечовина (ммоль/л) х 0,467

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для контролю ходу реакції і процедури вимірювання рекомендується використовувати контрольні сироватки із значеннями, визначеними даним методом. Наприклад: Diacon N, Diacon P (Австрія), TruLab N, TruLab P (Німеччина), ”ФілоНорм” або „ФілоПат” (Україна).

Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте обладнання, реактиви та можливі технічні проблеми.

Кожна лабораторія повинна встановити власну внутрішню систему контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

НОРМАЛЬНІ ВЕЛИЧИНИ [4]

- в сироватці крові:

Таблиця 2

Вікові категорії, років	Кількість сечовини (ммоль/л)	Азот сечовини (ммоль/л)
Кров з пуповини	(7,5 – 14,3)	(3,50 - 6,68)
Недоношені (< 1 тижня)	(1,1 – 8,9)	(0,51 - 4,16)
Недоношені (< 1 року)	(1,4 – 6,8)	(0,65 - 3,18)
Новонароджені/діти	(1,8 – 6,4)	(0,84 - 2,99)
18-60	(2,1 – 7,1)	(0,98 - 3,32)
60-90,	(2,9 – 8,2)	(1,35 - 3,83)
> 90	(3,6 – 11,1)	(1,68 - 5,18)

- кількість сечовини у сечі - (430 - 710) ммоль/добу.

Дані величини орієнтовні, відповідно до правил GLP (Належної Лабораторної Практики) рекомендується визначення власних нормальних величин в кожній лабораторії, характерних для обстежуваного контингенту.

ІНТЕРФЕРЕНЦІЯ

1. Ліпемія (тригліцериди до 24 г/л), гемоглобін до 8 г/л та білірубін до 1000 мг/л не заважають визначенню сечовини. Існує слабка кореляція між мутністю і концентрацією тригліцеридів.
2. Підвищений вміст аміаку впливає на результат. Інші лікарські препарати і субстанції (кортикостероїди, нефротоксичні лікарські препарати, тетрациклін, надлишок тироксину, СТГ, цитрат натрію, фторид натрію (у високих концентраціях); хлорамфенікол, стрептоміцин) можуть впливати на результат [4,6,7].
3. У сечі ендогенні іони амонію перешкоджають аналізу сечовини.
4. Можуть спостерігатися підвищені концентрації сечовини в кислотних умовах (наприклад, ацидоз).
5. Особлива увага повинна бути приділена запобіганню забрудненню амоніаком зразків і калібраторів для аналізів на сечовину / азот сечовини.

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 (целіакія).

Діагностична цінність сечовини, як показника функціонування нирок, обмежена у зв'язку з варіабельністю її концентрації в плазмі, через вплив 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. Якщо реактив потрапив в очі, на шкіру або слизові оболонки, його необхідно змити великою кількістю води. Постраждалому має бути надана кваліфікована медична допомога.

УТИЛІЗАЦІЯ

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

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

ПРИМІТКИ

1. Термін стабільності **Монореактиву** може значно зменшитися, якщо при зберіганні не дотримується температурний режим (від плюс 2 °С до плюс 8 °С).

2. Зразки з більш високою концентрацією сечовини необхідно розвести **1:1** фізіологічним розчином (розчин хлориду натрію 150 ммоль/л) і аналіз провести повторно. Отриманий результат потрібно помножити на 2.

3. Для ***HP018.06*** та ***HP018.07***, при змішуванні **Монореактиву** перенесенням **Субстратного реагенту** у флакон з **Ензімним реагентом**, рекомендується прополоскати флакон з **Субстратним реагентом** невеликим об'ємом приготовленої суміші, щоб уникнути втрат **Субстратного реагенту**.

4. Калібрування за допомогою доданого водного стандарту може викликати відхилення, пов'язане з розчинником, особливо при використанні деяких аналізаторів. У таких випадках рекомендується проводити калібрування, використовуючи калібратор на основі сироватки.

5. 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:

Монореактив : *Аналізуємий розчин* = 100 : 1

ЛІТЕРАТУРА

1. Talke H, Schubert GE. Enzimatische harnstoffbestimmung in blut und serm im optischen test nach Klinische Wochenschrift 1965; 43:174-175.
2. Gutmann I, Bergmeyer HU. Methods of enzymatic Analysis, ed Bermeyer HU, Academic Press, NY,1974; 4: 1794-1798.
3. Bablock W et al A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790
4. Энциклопедия клинических лабораторных тестов, под редакцией Н.У. Тица, стр. 337-338, «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, 4th ed. AACC Press, 1995.
7. Young DS. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.
8. IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997).

ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика»,
Україна, 49051 м.Дніпро, 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: filicit@ukr.net **http:**//www.felicit.com.ua

Виробник залишає за собою право вносити зміни без попереднього повідомлення. Дата останньої перевірки **18.01.2024**