

«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

Код за НК 024:2019 – **53587**

ТУ У 24.4-24607793-018-2003

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

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 3*).

REF	напівмікро	макро	REF	напівмікро	макро
<u>HP018.02</u>	200	100	<u>HP018.05</u>	300	150
<u>HP018.04</u>	100	50			

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

Коефіцієнт варіації визначення - не більше 5 %.

Чутливість ⁸ на 0,001 од. оптичної щільності – не більше 0,05 ммоль/л (570 нм).

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* тільки кваліфікованим лабораторним персоналом.

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 (Див. *Примітку 2*).

СКЛАД НАБОРУ

- Буферний розчин
 - фосфатний буфер (120 ± 6) ммоль/л; HP018.02 - 2 флакони по (100 ± 2) мл
 - саліцилат натрію (60 ± 3) ммоль/л; HP018.04 - 1 флакон з (100 ± 2) мл
 - нітропрурид натрію (5,0 ± 0,2) ммоль/л; HP018.05 - 3 флакони по (100 ± 2) мл
 - ЕДТО кислота (1,00 ± 0,05) ммоль/л;
- Гіпохлоритний реагент
 - гіпохлорит натрію (10,0 ± 0,5) ммоль/л; HP018.02 - 2 флакони по (100 ± 2) мл
 - гідроокис натрію (0,40 ± 0,02) моль/л; HP018.04 - 1 флакон з (100 ± 2) мл
 - HP018.05 - 3 флакони по (100 ± 2) мл
- Калібрувальний розчин сечовини
 - сечовина (10,0 ± 0,5) ммоль/л HP018.02, HP018.04, HP018.05
 - у перерахуванні на азот сечовини - 1 флакон з (5,0 ± 0,5) мл
 - (4,67 ± 0,10) ммоль/л
- Уреаза концентрат 5 кМОд/мл
 - HP018.02 - 2 пробірки по (0,50 ± 0,05) мл
 - HP018.04 - 1 пробірка з (0,50 ± 0,05) мл
 - HP018.05 - 3 пробірки по (0,50 ± 0,05) мл

ОБЛАДНАННЯ

- 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).

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

2. Пробірки місткістю 20 мл (згідно з чинними нормативними документами).
3. Піпетки місткістю 0,1 та 5 мл (ДСТУ EN ISO 835:2018).
4. Водяний термостат або автоматична водяна баня, що підтримують температуру плюс $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ (у випадку проведення аналізу при цій температурі).

ЗРАЗОК

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

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

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°C до плюс 25°C . Розчин стійкий протягом **2 тижнів** при температурі від плюс 2°C до плюс 8°C 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°C до плюс 8°C .

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Аналіз проводять у відповідності зі схемою, наведеною в таблиці 1

Таблиця 1

Відміряти у пробірку, мл	НапівМікроаналіз		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°C до плюс 25°C або 5 хв при температурі плюс 37°C .				
Гіпохлоритний реагент	1,00	1,00	2,00	2,00
Змішують, інкубують 10 хв при температурі від плюс 20°C до плюс 25°C або 5 хв при температурі плюс 37°C . 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».				

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.

РОЗРАХУНОК КОНЦЕНТРАЦІЇ

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

Таблиця 2

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

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

$\frac{E_{\text{докл}}}{E_{\text{кал}}} \times$	60	1000	28	467
---	----	------	----	-----

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для контролю ходу реакції і процедури вимірювання рекомендується використовувати контрольні сироватки із значеннями, визначеними даним методом. Наприклад: 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 3

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 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 результат ⁶ (цитрат натрію, фторид натрію (у високих концентраціях); хлорамфенікол, стрептоміцин) ⁴.

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, із-за впливу позаниркових чинників ^{5,7}.

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

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

ЗАСТЕРЕЖНІ ЗАХОДИ

1. При роботі використовувати гумові рукавички, заборонено їсти, пити, курити.
2. Гіпохлоритний реагент містить гіпохлорит натрію в сильно лужному середовищі. Реактив має подразнюючу дію для очей, шкіри і слизових оболонок. 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

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

1. Рекомендується вимірювати оптичну щільність розчинів при довжині оптичного шляху 5 мм тільки для концентрацій більше ніж 5 ммоль/л.
2. Довжина хвилі (що відрізняється від **570 (560-580) нм**) може бути підібрана для аналізатора за замовленням споживача. Наприклад: рекомендовані довжини хвиль для SOLAR PA2600 та МБА-540 – **620 нм**.
3. **Розраховано на загальний об'єм реакційної суміші: 4,02 мл (макро-), 2,01 мл (напівмікро-). Витрату реактивів можна масштабувати, відповідно до аспіраційного об'єму кювети аналізатора, виходячи з постійного співвідношення:**

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

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. 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, 3th ed. AACC Press, 1997.
7. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
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: felicit@ukr.net **http:** www.felicit.com.ua