

«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 024:2023 – **53583**

ТУ У 24.4-24607793-018-2003

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

IVD

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 (з урахуванням холостих та калібрувальних проб) на відповідну кількість визначень сечової кислоти (Див. *Примітку 3*).

REF	мікро	напівмікро	макро	REF	мікро	напівмікро	макро
<u>HP017.02</u>	50	25	12	<u>HP017.04</u>	500	250	125
<u>HP017.03</u>	100	50	25				

Діапазон визначаємих концентрацій – від 4 мкмоль/л до 1190 мкмоль/л.

Коефіцієнт варіації визначення - не більше 5 %.

Чутливість ⁸ на 0,001 од. оптичної щільності – не більше 2 мкмоль/л (520 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

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

1. Буферно-хромогенний розчин

- фосфатний буфер (рН 7,4) - (0,05 ± 0,01) моль/л, HP017.02 - 1 флакон з (40 ± 2) мл;
- 3,5-діхлоро-2-фенолсульфонат HP017.03 - 2 флакони по (40 ± 2) мл;
- (4,00 ± 0,05) ммоль/л; HP017.04 - 4 флакони по (100 ± 2) мл;
- стабілізатори, активатори.

2. Розчин ензимів

- пероксидаза (660 ± 30) МОд/л, HP017.02 - 1 флакон з (10,0 ± 0,5) мл;
- урикази (60 ± 2) МОд/л; HP017.03 - 2 флакони по (10,0 ± 0,5) мл;
- 4-амінофеназон (1,00 ± 0,05) ммоль/л; HP017.04 - 1 флакон по (100 ± 2) мл;

3. Калібрувальний розчин сечової кислоти

(357 ± 7) мкмоль/л

HP017.02, HP017.03 - 1 мікропробирка з (1,0 ± 0,1) мл;

HP017.04 - 5 мікропробирок з (1,0 ± 0,1) мл;

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 зберігати 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 (Можливо використання автоматичного аналізатора. Інструкція для автоматичного аналізатора висилається за замовленням споживача).

2. Пробірки місткістю 10 мл (згідно з чинними нормативними документами).
3. Піпетки місткістю 0.1; 1 та 5 мл (ДСТУ EN ISO 835:2018).
4. Водяний термостат або автоматична водяна баня, здатні підтримувати температуру (плюс 37 ± 1) °C (у випадку проведення аналізу при цій температурі) (згідно з чинними нормативними документами).

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

1. Для приготування МОНОРЕАГЕНТУ змішують **Буферно-хромогенний розчин і Розчин ензимів** в співвідношенні **4:1**. Отриманий розчин стійкий не менше 7 діб при зберіганні в ємності з темного скла і температурі від плюс 20 °C до плюс 25 °C або 1 місяця при температурі від плюс 2 °C до плюс 8 °C 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 °C протягом **(10 ± 1) хв** або інкубувати **(30 ± 1) хв** при кімнатній температурі (від плюс 20 °C до плюс 25°C), 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

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.

Виробник залишає за собою право вносити зміни без попереднього повідомлення. Дата останньої перевірки **04.12.2023**

НОРМАЛЬНІ ВЕЛИЧИНИ⁷

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 - Діста

- У середньому,	1,48 – 4,43 ммоль/добу	(250 – 750 мг/добу)
- 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, відповідно до правил GLP (Належної Лабораторної Практики) рекомендується визначення власних нормальних величин в кожній лабораторії, характерних для обстежуваного контингенту.

ДІАГНОСТИЧНА ІНФОРМАЦІЯ⁷

1. Сироватка (плазма) крові:

Підвищений рівень може бути пов'язаний з:

Подагрою, нирковою недостатністю, лейкомією, мієломною хворобою, поліцитемією, лімфоною, іншими дисемінованими 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, ксантинурією, синдромом патологічної секреції антидіуретичного гормону, недостатністю аденосиндеамінази, пуринів, а також нуклеозидфосфорилази, 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:

Ксантинурією, дефіцитом фолієвої кислоти, свинцевою інтоксикацією.

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

ІНТЕРФЕРЕНЦІЯ

- Ліпемія (тригліцериди 20 г/л), гемоглобін до 1 г/л та білірубін до 100 мг/л не заважають визначенню.
- Аскорбінова кислота в будь-якій кількості заважає визначенню.
- На хід визначення також можуть впливати деякі ліки і речовини (наприклад: ацетамінофен, N-ацетилцістеїн (НАС), метамізол приводять к одержанню фальшиво занижених результатів)^{3,4}.
- Фармацевтичні речовини, що викликають збільшення рівня сечової кислоти в пробі⁴:
 - 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).
- Фармацевтичні речовини, що викликають зменшення рівня сечової кислоти в пробі⁴:
 - Ацетогексамід, алопуринол, азатіоприн, бісгідроксикумарин, хлорпротиксен, клофібрат, контрастні засоби (діатризоат, йодіпамід, йопаноєва кислота, йоподат), етакринова кислота (в/в), фенофібрат, фенопрофен, фуросемід (в/в), кваіфенезин, халофенат, фенілбутазон (ослаблений ефект), пробенексид, саліцилати (у великих дозах), тинілієва кислота.
 - Метод з використанням урикази: аспірин.

ЗАСТЕРЕЖНІ ЗАХОДИ

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

ПАРАМЕТРИ ПРОГРАМУВАННЯ

Найменування набору реактивів

Сечова кислота Ф

Виробник залишає за собою право вносити зміни без попереднього повідомлення. Дата останньої перевірки 04.12.2023

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, °C	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	4-1190
Максимум норми	-
Мінімум норми	-
Підтвердження лінійності (так/ні)	ні

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. Якщо концентрація проби вище 1190 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 (напіvmікро-), 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.
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