کیت سنجش Urea

(Urease-GLDH/Kinetic/UV)

REF: PA17001-500 R 5 x 100
REF: PA17001-200 R 2 x 100
ISO: 13485:2016

مقدمه:

اوره مهمترین محصول نهایی در متابولیسم پروتئین ها است و بیشترین میزان آنالیت ازت دار غیر پروتئین خون را تشکیل میدهد. اوره در کبد تولید و از طریق کلیه وارد مجاری ادرار می گردد، بنابراین مقدار اوره در خون به میزان مصرف مواد پروتئینی، کاتابولیسم و عملکرد کلیه ها بستگی دارد. بالا بودن اوره می تواند مربوط به تغییرات تغذیه ای، بیماریهای ناشی از نارسایی کلیه ها، بیماریهای کبدی، دیابت و یا عفونت باشد.

روش : **Urease-GLDH/Kinetic/UV**

اصول آزمایش:

این کیت براساس روش غیر مستقیم طراحی شده است، بدین ترتیب که در مرحله اول اوره موجود در نمونه تحت تأثیر اوره- آز به یون آمونیوم و دی اکسید کربن تبدیل میشود و در مرحله دوم آمونیوم تولید شده با آلفاکتوگلوتارات و کوفاکتور NADH در حضور آنزیم گلوتامات دهیدروژناز کاتالیز شده و NAD تشکیل میشود. کاهش غلظت کوآنزیم NADH نسبت مستقیم با میزان اوره در نمونه دارد که در طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه گیری می شود.

$$Urea + H_2O \xrightarrow{Urease} (NH_4^+)_2 + CO_2$$

$$NH_4^+ + \alpha\text{-Ketoglutarate} + NADH \xrightarrow{GLDH} H_2O + NAD^+ + \text{L-Glutamate}$$

محتویات کیت:

Reagent Bottle	Description	Content
R1	TRIS Buffer pH 7.8	80 mmol/L
	α-Ketoglutarate	6 mmol/L
	Urease	75000 mmol/L
R2	Glutamate Dehydrogenase(GLDH)	60000 mmol/L
	NADH	0.32 mmol/L

نمونه مورد آزمایش:

- سرم یا پلاسمای هپارینه بدون آمونیوم یا **EDTA** دار و ادرار.
- پایداری اوره در سرم و پلاسما، دمای ۱۵ -۲۵ درجه سانتیگراد ۷ و دمای ۲-۸ درجه سانتیگراد۱۵ روز و در دمای منهای ۲۰ درجه سانتیگراد ۱۲ ماه میباشد .
- پایداری اوره در ادرار، دمای ۱۵-۲۵ درجه سانتیگراد ۷ و دمای ۲-۸ درجه سانتیگراد۱۵ روز-در دمای منهای ۲۰ درجه سانتیگراد ۱۲ ماه میباشد .
- ادرار باید به نسبت ۵۰+۱ با آب مقطر رقیق شود. برای مثال ۱۰۰ میکرولیتر ادرار را با ۵ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شود و عدد بدست آمده در عدد ۵۱ ضرب شود.

آماده سازی محصول:

تهیه محلول برای حالت دو محلول جدا از هم(Substrate Start) : معرفهای R1 و R2 بصورتی که جداگانه مورد استفاده قرار گیرند (Substrate Start)آماده مصرف می‌باشند.

تهیه محلول کار آماده برای تک محلول(Sample Start) : بسته به نیاز ۴ قسمت از معرف R1 را با یک قسمت از معرف R2 مخلوط نمایید، (برای مثال ۸ میلی‌لیتر معرف (R1) را با ۲ میلی‌لیتر معرف (R2) به آرامی مخلوط کنید). پایداری این محلول کار ۲ روز در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد می‌باشد. محلول را دور از نور نگهداری نموده و از آلوده شدن آن خودداری شود.

مواد و وسایل مورد نیاز:

۱-کووت مناسب با قطر یک سانتیمتر
۲- اسپکتروفتومتر یا کالریمتر با قابلیت اندازه گیری در دامنه ۳۴۰ نانومتر
۳- بن ماری ۳۷ درجه سانتیگراد (۰/۱ درجه سانتیگراد)
۴- سمپلر دقیق و کالیبره شده
۵- نوک سمپلر نو و تمیز زرد و آبی
۶- دستگاههای عمومی آزمایشگاه
۷-استاندارد یا کالیبراتور معتبر (میتوان از مولتی کالیبراتور عرضه شده توسط شرکت پارس پیوند پویش استفاده نمود.)

نگهداری و پایداری:

- معرف ها در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد تا تاریخ انقضاء مندرج برروی ویالها پایدار می باشند، مشروط بر اینکه درب ویالها بسته و آلوده نگردند. پایداری معرف کار بروی اتوآنالایزرهای مجهز به سیستم سردکننده یا یخچال ۲۰ روز و یا ۷ روز در دمای اتاق ۲۵-۱۵ درجه سانتیگراد است.
- از یخ زدگی معرفها پرهیز شود .
- معرفها (R2) را دور از نور نگهداری نمایید .
- کدورت یا اجزاء خارجی در این معرف باعث افزایش جذب نوری بلانک بیشتر از ۱ در طول موج ۳۴۰ نانومتر میگردند که از علائم تخریب معرف میباشد.

روش انجام آزمایش:

پارامترها: دما: ۳۷ درجه سانتیگراد / **طول موج**: ۳۴۰ نانومتر / **کووت**: یک سانت / **خوانش**: مقابل هوا یا آب مقطر / **نوع واکنش**: کاهشی

تک محلول: Sample Start

نمونه (کالیبراتور یا سرم بیمار یا ادرار رقیق شده)	۱۰ میکرولیتر
محلول کار آماده	۱۰۰۰ میکرولیتر
پس از مخلوط نمودن مقدار جذب نوری را در ۳۴۰ نانومتر بعد از ۳۰ ثانیه اندازه گیری نمایید، کرنومتر را بکار انداخته و دقیقاً پس از ۹۰ ثانیه اختلاف جذب نوری را از خوانش قبل تعیین نمایید. A/minΔ	

دو محلول: Substrate Start

نمونه	۱۰ میکرولیتر
معرف R1	۱۰۰۰ میکرولیتر
مخلوط کرده، برای مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ °C انکوبه نمایید سپس معرف R2 اضافه شود:	
معرف R2	۲۵۰ میکرولیتر
پسازمخلوط نمودن،جذب نوری را در ۳۴۰ نانومتر پس از ۳۰ ثانیه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد اندازه گیری نمایید، کرنومتر را بکار انداخته و دقیقاً پس از ۹۰ ثانیه اختلاف جذب نوری را از خوانش قبل تعیین شود. ΔA/min	

✓ پارامترهای این کیت برای آنالیزرهای مختلف موجود است لطفاً جهت دریافت با بخش فنی شرکت پارس پیوند پویش تماس حاصل فرمائید.

کنترل کیفی:

جهت کنترل کیفی میتوان از سرم کنترل های معتبر که توسط شرکت پارس پیوند پویش عرضه می شود استفاده نمود.

ضریب تبدیل واحد معمول (conventional) به واحد بین المللی(SI) و بلعکس :

1 mg/dl = 0.1665 mmol/L 1 mmol/L = 6.006 mg/dl

Urea mg/dl× 467.0 =BUN (mg/dl) BUN (mg/dl)× 2.14 = Urea mg/dl

Conventional unit mg/dl	**Conventional Test BUN**
SI unit mmol/L	**SI Test UREA**

خصوصیات علمی کیت:

۱- محدوده اندازه گیری:

ماکزیمم حد سنجش: 250 mg/dL

حساسیت: 1.0 mg/dL (0.00180 ΔmA)

توجه:

- نمونه های بیش از 250 mg/dL را به نسبت۱ +۲ با سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد NaCl رقیق نموده ، آزمایـش راتکرار و نتیجه را در عدد ۳ ضرب نمایید.
- جهت انجام این آزمایش از پیپت های شیشه ای تمیز و نوک سمپلر نو استفاده شود.

۲- **صحت:** در مقایسه با کیت و کنترلهای معتبر مشابه

$y=1.0418X - 1.9341$ $R^2=0.9952$

۳- **دقت:**

INTRA ASSAY (WITHIN-RUN) (n=20)

	Mean (mg/dL)	S.D. (mg/dL)	CV%
Sample I	32.7	1.06	3.24
Sample II	137.3	1.68	1.22

INTER ASSAY (Between RUN) (n=20)

	Mean (mg/dL)	S.D. (mg/dL)	CV%
Sample I	32.9	1.2	3.79
Sample II	131.9	1.97	1.49

محاسبه با استفاده از کالیبراتور:

$$\text{Urea (mg/dl)} = \frac{(A_2 - A_1)\ \text{Sample}}{(A_2 - A_1)\ \text{Calibrator}} \times \text{Calib. Conc.}$$

$$\text{Urine (mg/24h)} = \frac{\Delta A\text{Sample}/\Delta A\ \text{Calib.} \times \text{Calib.Value} \times 51 \times \text{Urine Vol.(ml)}}{100}$$

مقادیر طبیعی:

سرم یا پلاسما:	(15-45) mg/dl
ادرار ۲۴ ساعته:	(26-43) g/24h

* توصیه می شود هر آزمایشگاه مقادیر طبیعی مربوط به محدوده جمعیتی خود را تعیین کند.*

احتیاط در هنگام کار :

کلیه موارد ایمنی معمول در آزمایشگاه در هنگام کار با محلولها رعایت گردد و از وسایل حفاظت فردی استفاده شود.

دفع پسماند :

براساس دستورالعمل های وزارت بهداشت ، درمان و آموزش پزشکی عمل شود .

تداخلات :

بیلی روبین تا ، 30 mg/dl هموگلوبین تا 500 mg/dl ، تری گلیسرید تا 1000 mg/dll و اسد آسکوربیک تا غلظت 30 mg/dl تاثیری بر نتیجه آزمایش ندارند.

REFERENCES:

1.Yoshitaka Morishita et al. Clin.Chem., 43(1997) 1932-1936

2.Yoshitaka , Fukatsu et al. J.Clin.Chim. , 25(supp1 3) 1996:30C

Ver.04/2016

3.Dingeon,B.Ann.Biol.Clin.33,3(1975

4.Lott,J.A.Clin.Chem.21,1754(1975)

5.Trinder, P., Ann. Clin. Biochem., 6:24 (1969).