MEDICHEM
MIDDLE EAST
Clinical Chemistry Reagents
Liquid Stable Reagents

الإجراء اليدوي

البرنامج الآلي متوفر عند الطلب

Cat. No. 14611	R1	3 x	40	ml
من أجل 180 تحليل	R2	3 x	20	ml

البولة Urea

طريقة أنزيمية غير لونية

كاشف سائل

مبدأ الاختبار:

يعتمد عيار البولة الدموية على التفاعل الحركي التالي:

$$Urea + H_2O \xrightarrow{Urease} 2\,NH_3 + CO_2$$

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

تتحلمه البولة بفعل خميرة اليورياز إلى الأمونيا و ثاني أوكسيد الكربون. الأمونيا الناتجة تتفاعل مع الفا كيتوغلوتارات و بوجود NADH لينتج الغلوتامات. إن الكمية من NADH المكافئة لتركيز الأمونيا تمر بمرحلة أكسدة أثناء التفاعل و تبدي نقصاناً في الأمتصاصية عند طول موجة 340 نانومتر وهذا يعبر بشكل طردي عن تركيز البولة في العينة.

تركيب الكاشف :

Reagent R1		
Tris-Buffer	20	mmol/L
α-ketoglutarate	8	mmol/L
NADH	325	µmol/L
Detergent, preservative.		
Reagent R2		
Tris-Buffer	20	mmol/L
ADP	10	mmol/L
Urease	≥ 30	KU/L
GLDH (Glutamate-Dehydrogenase)	≥1	KU/L
Detergent, preservative.		
Standard: **Concentration: As indicated on the bottle**		

ثباتية الكاشف و تحضير محلول العمل:

كاشف R1: سائل.
كاشف R2: سائل.
كل الكواشف ثابتة خلال فترة الصلاحية المثبتة على اللصاقة عند التخزين في الدرجة2– 8 مْ.

محلول العمل:
نضيف 2 حجم من كاشفR1 إلى حجم واحد من كاشف R2. نمزج بلطف. محلول العمل ثابت بعيداً عن الضوء مدة 2 شهر في الدرجة 2- 8 مْ.
ملاحظة: لا تستخدم الكاشف اذا كانت امتصاصية محلول العمل أقل من 1.00 عند طول الموجة 340نانومتر.

جمع العينة و حفظها:

1 - عينة مصل غير منحلة هي الاقتراح الأمثل.
2 - يمكن استخدام بلازما صوديوم هيبارين أو صوديوم فلوريد أو سيترات أو أوكزالات أو EDTA, دون أي انحلال.
3 - لا يمكن استخدام عينات بلازما سحبت على موانع التخثر تحوي الأمونيا مثل أمونيا فلوريد أو أمونيا هيبارين لا يمكن استخدامها.
4 - كل المواد التي يمكن أن تتماس مع العينة يجب أن تكون خالية من الأمونيا و المعادن الثقيلة.
5 - البولة في المصل و البلازما ثابتةلمدة :
72 ساعة في الدرجة 2 – 8 مْ و 8 ساعة في الدرجة 20-25 مْ.
6 - عينة البول تمدد مباشرة بما مقطر بنسبة (1+20) واضرب النتيجة بـ21.

المعايرة:

مصل معياري عام	MediCal U Cat .No 15011
المعياري	Urea STD. Cat .No 16201

ضبط الجودة:

مصل شاهد طبيعي	Meditrol N Cat .No 15171
مصل شاهد مرضي	Meditrol P Cat .No 15181

الإجراء:

احضن محلول العمل في الدرجة37 °C قبل الاستخدام

طول الموجة (فوتومتر)	Hg 340, 334, or 365 nm
طول الموجة (سبكتروفوتومتر)	340nm
حجرة القياس	المسار الضوئي 1 cm
درجة الحرارة	37 °C
القياس	مقابل الهواء أو الماء المقطر
التفاعل	حركي متناقص

التحليل:

	المعياري	العينة
المعياري	10 µl	--
العينة	--	10 µl
محلول العمل	1000 µl	1000 µl

امزج بشكل جيد و احضن مدة 1 دقيقة في الدرجة 37مْ. أقرأ التغير في الامتصاصية الضوئية كل دقيقة خلال 3 دقائق, احسب تغير الامتصاصية الوسطي (ΔA/min) مقابل الهواء أو الماء المقطر.

الحساب:

$$\text{تركيز البولة (mg/dl)} = \frac{\Delta A_{\text{العينة}}/min}{\Delta A_{\text{العياري}}/min} \times \text{تركيز العياري (mg/dl)}$$

$$\text{تركيز البولة في بول 24 ساعة} = \frac{\text{تركيز البولة في البول (mg/dl)} \times \text{حجم البول خلال 24 ساعة (ml)}}{100\,000}\ g/24h$$

معامل التحويل بين الواحدات:

$$mg/dl \xrightarrow{\times\ 6} mmol/L \qquad mmol/L \xrightarrow{0.166\ \times} mg/dl$$

الخطية:

حتى: 250 mg/dl (41.5 mmol/L)
العينة ذات النتيجة أعلى من 250 mg/dl يجب أن تمدد بمحلول كلور الصوديوم 0.9% (محلول فيزيولوجي) بنسبة (1+1) و بإعادة التحليل نضرب النتيجة بـ 2.

التداخلات:

1 - خميرة اليورياز تثبط بفعل الفلوريدات.
2 - البيليروبين أعلى من 20 mg/dl والأسكوربيك أسيد أعلى من 200 mg/dl و الخضاب أعلى من500 mg/dl تؤثر بقيم مهملة على التحليل.
3 - انظر في كتاب Young *et. al.* من اجل جداول إضافية لتداخل المواد.

In vitro diagnostics

First edition 2010

التحذيرات:

يحتوي الكاشف على أزيد الصوديوم كمادة حافظة. و من المحتمل أن يرتبط مع أملاح النحاس أو الرصاص ليشكل أزيدات المعادن المتفجرة, لذلك بعد طرح الكاشف المستخدم اغسل بكمية كبيرة من الماء لمنع ارتباط الأزيد.

المجال الطبيعي:

المصل أو الهلازما

حديثي الولادة	< 42 mg/dl
الرضع شهر ≤ 6	< 42 mg/dl
شهر ≥ 7	< 48 mg/dl
البالغون	< 50 mg/dl

البول

بول 24 ساعة	10 – 35 g/24h
عينة بول صباحي	900 - 3000 mg/dl

المراجع:

1. Gutmann, I. and H.U. Bergmeyer in H.U. Bergmeyer: Methoden der enzym. Analyse, 3. Aufl. Bd. II, Verlag. Chemie Weinheim, 1974, S. 1842.
2. MacKay, E.M. u. L.L. MacKay, J. Clin. Invest. 4 (1927) 295.
3. Sarre, H.: Nierenkrankheiten, Georg Thieme Verlag, Stgt.1959.
4. Young, DS., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, fifth edition 2000, AACC Press, Washington, D.C.