MEDICHEM
MIDDLE EAST
Clinical Chemistry Reagents
Liquid Stable Reagents

الإجراء اليدوي

Cat. No. 14601
من أجل 200 تحليل

R1	4 x	50	ml
R2	1 x	4	ml
R3	1 x	40	ml

Urea البولة

طريقة أنزيمية لونية
كاشف سائل

مبدأ الاختبار:

يعتمد عيار البولة الدموية على التفاعل الحركي التالي:

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

$$NH_3 + \text{salicylate} + NaOCl \xrightarrow[OH^-]{\text{nitroprusside}} \text{dicarboxyl indophenol}$$

تتحلمه البولة بفعل خميرة اليورياز إلى الأمونيا و ثاني أوكسيد الكربون الأمونيا الناتجة تتفاعل مع الساليسيلات و هيبوكلوريد الصوديوم لينتج لون أخضر من الإندوفينول-(2,2) dicarboxyl-indophenol) كثافة اللون الناتج تتناسب مع تركيز البولة الموجود في العينة.

تركيب الكاشف:

Reagent R1		
Phosphate Buffer, (pH 7.0)	50	mmol/L
sodium salicylate	62	mmol/L
sodium nitroprusside	3.5	mmol/L
EDTA	1.2	mmol/L
Reagent R2		
Urease	≥50	KU/L
Reagent R3		
Sodium hydroxide	900	mmol/L
sodium hypochlorite	3.75	mmol/L
Standard: Concentration: As indicated on the bottle		

ثباتية الكاشف و تحضير محلول العمل:

كاشف R1: سائل.
كاشف R2: سائل.
كاشف R3: هو عبارة عن سائل جاهز للعمل.
كل الكواشف ثابتة خلال فترة الصلاحية المثبتة على اللصاقة عند التخزين في الدرجة 2–8 مْ.

محلول العمل:

أضيف 1ml من كاشف R2 إلى عبوة 50ml من كاشف R1. (تأكد من إضافة كل الكمية إلى المحلول R1)
أمزج بلطف بدون تشكيل رغوة مدة ربع ساعة قبل الاستخدام)
نبقي محلول العمل في عبوة الكاشف R1 بعيداً عن الضوء.
محلول العمل ثابت مدة 1 شهر في الدرجة 2- 8 مْ.

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 ثابتة لمدة :
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 المعياري — MediCal U Cat .No 15011
Urea STD. Cat .No 16201

ضبط الجودة:

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

الإجراء:

طول الموجة (فوتومتر)	Hg 578 nm
طول الموجة (سبكتروفوتومتر)	580nm
حجرة القياس	المسار الضوئي 1 cm
درجة الحرارة	37°C / 20 – 25 °C
القياس	مقابل الناصع
التفاعل	نقطة نهاية المعايرة

التحليل:

	الناصع	المعياري	العينة
ماء مقطر	10 µl	--	--
المعياري	--	10 µl	--
العينة	--	--	10 µl
محلول العمل	1000 µl	1000 µl	1000 µl
امزج بشكل جيد و احضن مدة خمس دقائق في الدرجة 37 مْ. أو عشرة دقائق في الدرجة 20 – 25 مْ.			
كاشف R3	200µl	200µl	200µl
امزج بشكل جيد و احضن على الأقل مدة 7 دقائق في الدرجة 37 مْ. 10 دقيقة في الدرجة 20 – 25 مْ.أقرأ الامتصاصية الضوئية (A) مقابل الناصع. يمكن إجراء القياس خلال ساعة إضافية.			

الحساب:

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

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

معامل التحويل بين الواحدات:

$$\text{mmol/L} \xrightleftharpoons[0.166\ X]{X\ 6} \text{mg/dl}$$

الخطية:

حتى: 200 mg/dl (33.3 mmol/L)
العينة ذات النتيجة أعلى من 200 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 - تلوث الزجاجيات بالأمونيا و تلوث الكاشف بأمونيا الهواء مصدر رئيسي للخطأ.
3 - المستويات المرتفعة من البيليروبين (أعلى من 20 mg/dl) و الشحوم الثلاثية (أعلى من 800 mg/dl) و الهيموغلوبين (أعلى من 500mg/dl) تبدي تداخلاً مع هذه الطريقة.
4 - انظر في كتاب Young *et. al.* من اجل جداول إضافية لتداخل المواد.

التحذيرات:

1 - الكاشف R3 محلول قلوي , تجنب أي تماس مباشر, في حال حدوث ذلك اغسل بكمية وافرة من الماء المقطر.
2 - لا تستخدم الفم لأخذ العينات بلممص .
3 - تجنب التلوث الممصات بالأمونيا.
4 - لا تعرض وسط التفاعل إلى مصدر ضوئي قوي.
5 - يحتوي الكاشف R1 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 البلازما

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	0.9 – 3.0 g/dl

المراجع:

1. Krupp, M.A., et. al, 20th Ed., Lange Medical Publications, Los Altos, CA, p.216 (1982).
2. Kaplan, A. And Teng, L.L. in Selected Methods of Clinical Chemistry, Vol. 9, Ed. By W.R. Faulkner and S. Mietes, AACC, Washington, pp 357-363 (1982).
3. Tietz, NW., textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Co., Phila-delphia, p. 1270-1271 (1986).
4. Young, D.S., et al, Clin. Chem. 21:1D(1975).
5. Friedman, R.B. et al, Clin. Chem., 26: 1D (1975)