

	Јавна здравствена установа Болница „Свети Врачеви“ Бијељина Српске војске 53			MI-10-030
Упутство за методу испитивања урее				
Страна 1 од 7	Издање:	Важи од:	Одобрио	Копија број
	2	2023-03-22	мр пх Анђела Митровић руководилац Службе за хематолошку и биохемијску дијагностику	Е

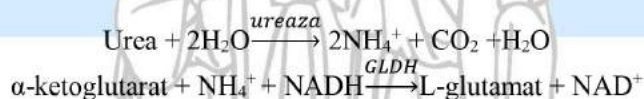
1. СВРХА ИСПИТИВАЊА

Уреа тест се користи за квантитативно одређивање урее у хуманом серуму, плазми или урину. Одређивање урее у серуму користи се у дијагностици бубрежних и метаболичких болести, те за процјену функције бубрега. Тест се често спроводи заједно са одређивањем креатинина у диференцијалној дијагностици пререналне (срчана декомпензација, губитак воде, повећан катаболизам протеина), реналне (гломерулонефритис, хронични нефритис, полицистични бубрези, нефросклероза, тубуларна некроза) и постереналне (опструкција мокраћних путева) хиперуремије.

2. ПРИНЦИП И МЕТОД ПРОЦЕДУРЕ КОЈА СЕ КОРИСТИ ЗА ИСПИТИВАЊЕ

У првој реакцији уреа у узорку хидролизује под дејством уреазе на амонијак и угљен диоксид. У другој реакцији коју катализије глутамат-дехидрогеназа, амонијак и α -кетоглутарат, преварају се у глутамат и воду, при чему се истовремено одвија оксидација редукционог никонтин-аденин-динуклеотида (NADH) у оксидисани облик (NAD⁺). За сваки мол урее, оксидишу се два мола NADH. Смањење апсорбације на 340 nm пропорционално концентрацији урее у узорку.

Методологија: Спектрофотометријска метода; Ензимска метода са уреазом и глутамат дехидрогеназом.



3. КАРАКТЕРИСТИКЕ ПЕРФОРМАНСИ

3.1. Линеарност

Уреа тест за узорке серума линеаран је у интервалу од 1,1 до 44,6 mmol/L.

3.2. Граница детекције (LOD- eng. Limit of Detection)

LOD је најмања количина анализата у узорку која се може детектовати. LOD за уреу у серуму је 0,7 mmol/L.

3.3. Граница квантификације (LOQ)

Граница квантификације (LOQ) је концентрација анализата која се може одредити уз одговарајућу тачност и прецизност. LOQ за уреу у серуму је 0,1 mmol/L.

3.4. Прецизност

Репрезентативни резултати испитивања унутар-лабораторијске прецизности теста помоћу CLSI-овама протокола EP05-A2 приказани су у табели 1.

Болница Бијељина	Страна 2 од 7	Издање:	Важи од:	MI-10-030
		2	2023-03-22	

Табела 1: Резултати прецизности теста

Узорак	n	Средња вриједност (mmol/L)	Поновљивост		Унутар- лабораторијска прецизност (Укупна)	
			SD	%KV	SD	%KV
Control Level 1	120	3,1	0,13	4,2	0,15	4,9
Control Level 2	120	13,9	0,16	1,2	0,24	1,8
Control Level 3	120	22,0	0,20	0,9	0,35	1,6
Узорак	120	5,5	0,10	1,7	0,12	2,3

SD-стандардна девијација; %KV-коэффициент варијације

3.5. Поређење метода

Резултати добијени одређивањем урее у серуму на *Alinity c* анализатору упоређени су са резултатима добијеним на *ARCHITECT cSystem* анализатору Passing-Bablok регресионом анализом.

Табела 2: Поређење метода Alinity c Urea Nitrogen vs ARCHITECT Urea Nitrogen

врста узорка	јединица	коэффициент корелације	одсјечак на у осн	нагиб регресионе линије	интервал концентрација
серум	mmol/L	1.00	-0,04	1,01	2,5-44,5

4. ВРСТА УЗОРКА

Врста узорка: За тестирање се могу користити узорци серума, плазме и урина.

Чување узорка: По могућности анализа узорка се врши у што краћем року. Избјегава се вишекратно замрзавање и одмрзавање узорка. Ако се узорци не тестирају у року од 24 сата серум или плазма се одвајају од угрушка или гела у епрувети. Стабилност узорка приказана је у табели 3.

Табела 3: Стабилност узорка

Температура	Максимално вријеме чувања	
	серум/плазма	урин (са тимолом)
20 до 25 °C	7 дана	2 дана

Болница Бијељина	Страна 3 од 7	Издање:	Важи од:	MI-10-030
		2	2023-03-22	

2 до 8 °C	7 дана	7 дана
-20 °C	1 година	1 мјесец

Транспорт узорка: Узорке до мјеста обраде је потребно доставити у одговарајућем положају и на сталцима, при чему крв не смије да буде у додиру са чепом. Препоручено вријеме доставе до лабораторије је 2 сата од узимања узорка.

5. ПРИПРЕМА ПАЦИЈЕНАТА

Препорука је да се узорак крви узима наташте, ујутру најмање 12 сати након последњег оброка, као и да вријеме за вађења крви буде између 7 и 10 h. Дан прије вађења крви треба узимати уобичајне оброке, али не премасне. За вечеру конзумирати лакшу храну. Вечера треба да буде најкасније до 19 h. После 19 h може се пити течност, изузев алкохола, кафе и претјерано заслађених напитака. Дан прије узимање крви треба избјежавати интензивну физичку активност. На дан узимања крви, ујутру, не треба ништа јести, пити ни пушити. Уобичајну терапију узети, након вађења крви, уколико лекар није другачије одредио. Такође, потребно је избјежавати дијететске суплементе и биљне препарате, које лекар није одредио као обавезне, као и интензивну физичку активност, конзумирање алкохолних и енергетских пића, два до три дана прије узимања узорка крви.

6. ВРСТА ПОСУДЕ И АДТИВИ

За узорковање крви се користе пластичне епрувете, односно вакутајнери. За добијање серума користе се епрувете са активатором когулације, са или без гела. Када се уреа одређује из плазме узорковање крви се врши у епрувету са литијум/натријум хепарином. Први јутарњи или насумични урин се сакупља у пластичне или стаклене бочице за урин. 24-часовни урин се сакупља у чисте пластичне или стаклене боце или стаклене контејнере.

7. ОПРЕМА И РЕАГЕНСИ

Од опреме и регенаса за извођење овог теста потребне су: реагенс сет, АBBОТТ анализатор заштитне рукавице, заштитна одјећа, аутоматска пипета, наставци за пипету, реакционе чашице. Сет реагенаса за одређивање урес је у течном облику, спреман за употребу и садржи један реагенс, чије су компоненте приказане у табели 4.

Табела 4: Компоненте реагенса

Реактивне компоненте	Концентрација
R1: NADH	2,95 mmol/L
R2: α-кетоглутарна киселина	99,8 mmol/L
Уреаза	23,5 KU/L
GLD	63,5 KU/L
Аденозин дифосфат	7,6 mmol/L

8. УПРАВЉАЊЕ УСЛОВИМА СРЕДИНЕ И БЕЗБЈЕДНИШЋУ

Обезбјеђивање услова радне средине представља систем мјера и активности за остваривање услова које захтјевају испитивања која се спроводе и прописане су у упутству УП-10-138: *Обезбјеђење и праћење услова средине у процесу испитивања*. У просторији у којој је смјештен апарат, температура је прилагођена условима који су прописани од стране произвођача опреме и захтјевима испитивања. Температура се одржава на вриједностима до до 25 °C, што се евидентира у обрасцу ОБ-10-221: *Евиденција температуре*. Упутством УП-10-137: Мјере

Болница Бијељина	Страна 4 од 7	Издање:	Важи од:	MI-10-030
		2	2023-03-22	

заштите на раду у Служби за хематолошку и биохемијску дијагностику, прописују се мјере заштите на раду.

Овај тест захтјева руковање хуманим узорцима. Сваки узорак крви или другог биолошког материјала који се достави у лабораторију је потенцијално је инфективан, па је неопходно да се са овим материјалом крајње пажљиво рукује. То значи да приликом манипулације узорцима и при раду са апаратом треба користити рукавице за једнократну употребу, као и друга заштитна средства.

Реагенс R1, садржи метилсотиазолон и натријум азид (<0,1%), који могу изазвати алергијске реакције на кожи и у контакту са киселинама ослобађају токсични гас. Реагенс R2 садржи трис хидроксиметил аминотетан и натријум азид (<0,2%), који могу довести до иритације коже и у контакту са киселинама ослобађају токсични гас. Реагенс се користи у затвореним системима, гдје је контакт оператера са реагенсом сведен на минимум, такође у питању се веома мале концентрације штетних материја, што доприноси мањој изложености. При руковању овим реагенсом и отпадом потребно је предузети мјере предострожности, носити заштитне рукавице, одијело и заштиту за очи. Уколико дође до контакта са реагенсом треба поступити према препорукама произвођача.

9. ПРОЦЕДУРА КАЛИБРАЦИЈЕ (МЕТРОЛОШКА СЛЕДЉИВОСТ)

Калибрација се врши методом линеарне регресије, гдје се као калибратори користе *Multiconstituent Calibrator* 1 и 2 и дејонизована вода као нулти калибратор. Калибрација остаје стабилна око 7 дана, а поновна калибрација потребна је након сваке промјене серије реагенса (лот) и ако су контроле изван прихватљивих распона концентрација. Ова метода је стандардизована са референтним материјалом NIST^a SRM^b 965 по референтној методи ID-GC/MS^c-u.

NIST^a –National Institute of Standards and Technology,

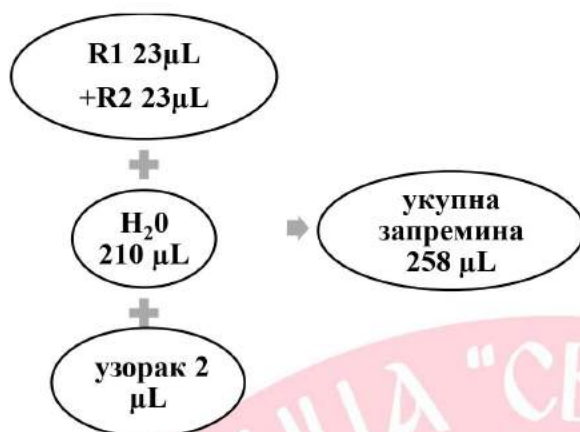
SRM^b –Standard Reference Material,

ID-GC/MS^c –Isotope Dilution-Liquid Chromatography Mass Spectrometry.

10. КОРАЦИ ПРОЦЕДУРЕ

1. Провјерава се доступност свих потребних реагенаса за извођење теста.
2. Реагенс сет се поставља у апарат *ABBOTT cSystem*.
3. Прије анализе узорака, спроводи се интерна контрола квалитета и по потреби калибрација.
4. Узорци се стављају у епрувете или чашице са бар кодовима пацијената на носаче, сталке (*carrier*).
5. Након постављања узорака на транспортни модул врши се њихова идентификација скенирањем бар кода, након чега се врше аналитички процеси испитивања узорка.
6. При стандардном одређивању урее, запремине које се пипетирају и чине реакциону смјесу приказане су дијаграмом.

Болница Бијељина	Страна 5 од 7	Издање:	Важи од:	MI-10-030
		2	2023-03-22	



11. ПРОЦЕДУРЕ КОНТРОЛЕ КВАЛИТЕТА

Контрола квалитета спроводи се примјеном контролних материјала које препоручује произвођач, а то су *Technopath Multichem S Plus* ниво 1, *Technopath Multichem S Plus* ниво 2 и *Technopath Multichem S Plus* ниво 3. Интерна контрола квалитета се спроводи континуирано, сваког дана, прије почетка спровођења рутинских анализа. Такође, контрола квалитета се спроводи при промјени серије реагенса или калибратора (лот). Резултати статистичке обраде при интерној провјери аутоматски се приказују на контролној карти која се креира за сваки параметар посебно, чиме се оцијењује значајност разлике између вриједности која се добија анализирањем контролног материјала и очекиване вриједности за тај материјал. Ако је вриједност контролног узорка унутар двије стандардне девијације метода је под контролом и резултати пацијената се могу издати.

На крају мјесеца се штампају контролне карте за дати параметара. Апарат аутоматски рачуна средњу вриједност и стандардну девијацију, док коефициент варијације (KV%) рачуна одговорни биохемичар и пореди са коефициентом варијације препорученом од стране произвођача, при чему се одређује прецизност методе.

12. ИНТЕРФЕРЕНЦИЈЕ

Иктерус: нема значајне интерференције за одређивање урее при концентрацији билирубина од 513-1026 µmol/L.

Хемолиза: нема значајне интерференције за одређивање урее при концентрацији хемоглобина од 10-20 g/L.

Липемија: нема значајне интерференције за одређивање урее при концентрацији триглицерида од 7,5-20 g/L.

Лијекови (прихватљив критеријум ±10%): нема значајне интерференције за одређивање урее при концентрацији сулфапиридина (300 mg/L), сулфасалазина (300 mg/L), темозоламида (20 mg/L).

13. ПРИНЦИПИ ПРОЦЕДРЕ ЗА ИЗРАЧУНАВАЊЕ РЕЗУЛТАТА

Принцип одређивања и израчунавања концентрације урее се заснива на линеарној регресији, гдје анализатор мјери апсорбанције калибратора и генерише калибрациону криву, док при анализи мјери апсорбанцију анализата коју анализатор аутоматски преводи у концентрацију. Мјерна несигурност за уреу (Multichem S, ниво 1) је ±4,5%, а за уреу (Multichem S, ниво 2) је ±3,0%.

Болница Бијељина	Страна 6 од 7	Издање:	Важи од:	MI-10-030
		2	2023-03-22	

14. БИОЛОШКИ РЕФЕРЕНТНИ ИНТЕРВАЛ И ИНТЕРВАЛ ВРИЕДНОСТИ КЛИНИЧКОГ ОДЛУЧИВАЊА

Референтни интервал за урее у серуму/плазми наташте, приказан је у табели 5:

Табела 5: Референтни интервал

Старосна доб	Распон (mmol/L)
Дјеца:	
1-3 године	1,8-6,0
4-13 година	2,5-6,0
14-19 година	3,0-7,5
Одрасли, мушкарци:	
<50 година	3,2-7,4
>50 година	3,0-9,2
Одрасли, жене:	
<50 година	2,5-6,7
>50 година	3,5-7,2

15. ИНТЕРВАЛ ИЗВЈЕШТАВАЊА О РЕЗУЛТАТИМА ИСПИТИВАЊА

Интервал извјештавања о резултатима испитивања за урее представља 1,1-44,6 mmol/L.

16. УПУТСТВА ЗА ОДРЕЂИВАЊЕ КВАНТИТАТИВНИХ РЕЗУЛТАТ

Узорци у којима је вриједност урее виша од 44,6 mmol/L треба разблажити аутоматским или ручним поступком. Ако се користи протокол за аутоматско разблаживање узорка, анализатор сам то врши у омјеру 1:5 (20 μ L узорка и 80 μ L 0,85 % до 0,9% NaCl) и аутоматски исправља концентрацију множењем резултата са одређеним фактором разблажења. Ручно разблаживање узорка се проводи коришћењем физиолошког раствора (0,85 % до 0,90 % NaCl). Код задавања теста оператер мора уписати фактор разблажења узорка, како би се множењем добијеног резултата са унесеним фактором, добила аутоматски исправљена концентрација. Када оператер не унесе фактор разблажења, резултат се множи са одговарајућим фактором прије издавања налаза.

Фактор ручног разблажења=(волумен узорка+волумен реагенса за разблажење)/волумен узорка.

17. АЛАРМАНТНЕ/ КРИТИЧНЕ ВРИЕДНОСТИ

Алармантне вриједности урее за одрасле износе >35,6 mmol/L.

18. КЛИНИЧКО ТУМАЧЕЊЕ ЛАБОРАТОРИЈЕ

За постављање дијагнозе и праћење тока болести, потребно је узети у обзир карактеристике пацијента, тренутну клиничку слику, ранија и тренутна обољења или патолошка стања, терапију коју пацијент прима и др., како би се лабораторијски налаз исправно интерпретирао.

Повишене вриједности:

Преренална азотемија: блага дехидрација, високо протеинска исхрана, убрзан катаболизам протеина, конгестивна срчана болест, шок, терапија глукокортикоидима.

Болница Бијељина	Страна 7 од 7	Издање:	Важи од:	MI-10-030
		2	2023-03-22	

Ренална азотемија: гломерулонефритис, пијелонефритис, нефросклероза.

Постренална азотемија: опструкција уринарног тракта каменом, тумором, увећаном простатом.

Снижене вриједности: ниско протеинска исхрана, прекомјеран унос течности, инсуфицијенција јетре, трудноћа.

19. ПОТЕНЦИЈАЛНИ ИЗВОРИ ВАРИЈАЦИЈА

Билошка варијабилност:

Пол: мушкарци имају више вриједности урее.

Старост: са годинама се повећава вриједност урее.

Исхрана: после узимања стандардног obroka расте концентрација урее; високопротеинска исхрана двоструко повећава концентрацију урее и њено излучивање; вегетеријанци имају мање вриједности урее у односу на невегетеријанце.

Гладовање: дуготрајно гладовање утиче на снижавање вриједности урее.

Езогени фактори варијабилности:

Услед неадекватног узорковања крви код пацијената који примају инфузиони раствор, може доћи до ефекта дилуције.

20. РЕФЕРЕНЦЕ

1. Urea Nitrogen тест, Упутство произвођача за одређивање урее на *Alinity c* анализаторима-преведено на српски језик 2018.
2. Мајкић-Синг Н. (2006). Медицинска биохемија, друго допуњено издање. Друштво медицинских биохемичара Србије, Београд.
3. Спасић С., Јелић Ивановић З., Спасојевић-Калимановска В. (2005). Практикум за вјежбе из медицинске биохемије, за студенте Фармацеутског факултета, Фармацеутски факултет, Београд.
4. Хоновић Л. (2013). Зашто нам је важна и како проводити квалитетну пријеаналитичку фазу лабораторијске дијагностике? Гласник Пулске болнице, 10 (10), 21-25. Преузето с <https://hrcak.srce.hr/130676>.
5. Architect System Operations Manual. Abbott Laboratories, 2013.
6. Ћорић Ј. (2014). Контрола квалитета рада у лабораторијској медицини - Факултет здравствених студија, Сарајево.
7. Don-Wauchope, A. C., & Chetty, V. T. (2009). Laboratory defined critical value limits: how do hospital physicians perceive laboratory based critical values? *Clinical biochemistry*, 42(9), 766–770.