

«УТВЕРЖДАЮ»



Административный директор
ЗАО "АНАЛИТИКА"
В.М. Алексеенков
«21» января 2008г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Тест-полоски Combina для биохимических исследований мочи *in vitro*

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-полоски Combina производства фирмы HUMAN GmbH (ФРГ) предназначены для скрининговых исследований в целях диагностики диабета, заболеваний печени, гемолитических болезней, урогенитальной и почечной патологии, а также нарушений метаболизма и кислотно-щелочного баланса. Для проведения данных исследований применяются следующие тест-полоски:

- Тест-полоски для определения глюкозы - Combina Glucose
- Тест-полоски для определения глюкозы, кетонов - Combina 2
- Тест-полоски для определения глюкозы, белка, pH - Combina 3
- Тест-полоски для определения удельного веса, нитритов, pH, белка, глюкозы, кетонов, уробилиногена, билирубина, крови - Combina 9SG
- Тест-полоски для определения билирубина, уробилиногена, кетонов, аскорбиновой кислоты, глюкозы, белка, крови, pH, нитритов, лейкоцитов, удельного веса - Combina 11S.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА ТЕСТ-ПОЛОСОК

2.1. Принцип метода, ожидаемые значения и ограничения

Билирубин: Тест основан на развитии красного окрашивания при связывании билирубина со стабилизированными солями диазония в сильноокислой среде. Минимальная чувствительность теста составляет от 0,5 до 1 мг билирубина/дл мочи. Поля цветовой шкалы соответствуют следующим значениям концентрации: 0 (отрицательный), 1(+), 2(++), 4(+++) мг/дл, или, соответственно, 0 (отрицательный), 17(+), 35(++), 70(+++) мкмоль/л.

В норме билирубин в моче не обнаруживается даже самыми чувствительными методами. Выявление следовых количеств билирубина свидетельствует о ранних стадиях заболеваний печени и требует проведения дальнейшего обследования. Заниженные или ложноотрицательные результаты могут быть вызваны высокими концентрациями аскорбиновой кислоты или нитритов (см. для контроля соответствующие тестовые области на этой же полоске). Прямой солнечный свет стимулирует окисление билирубина, что приводит к заниженным или ложноотрицательным результатам. Завышенные или ложноположительные результаты могут быть следствием наличия в моче диагностических или терапевтических красителей, pH мочи не влияет на результат.

Уробилиноген: Тестовая область содержит стабилизированную диазониевую соль, дающую с уробилиногеном красноватое азосоединение. Нормальным уровнем экскреции считается 0,1-0,8 мг/дл (1,7-30 мкмоль/л). Концентрации более 2,0 мг/дл (35 мкмоль/л) рассматриваются как патология. Поля цветовой шкалы соответствуют следующим концентрациям уробилиногена: норм. (норма), 2, 4, 8, 12 мг/дл или, соответственно, норм. (норма), 35, 70, 140 и 200 мкмоль/л.

Реакция не зависит от значения pH мочи. Тест ингибируется высокими концентрациями формальдегида. Длительное воздействие на мочу яркого света может вести к окислению уробилиногена и, как следствие, к заниженным или ложноотрицательным результатам. Завышенные или ложноположительные результаты могут быть результатом наличия в моче диагностических или терапевтических красителей, приема свеклы.

Кетоны: Тест основан на взаимодействии ацетона и ацетоуксусной кислоты с нитропруссидом натрия в щелочной среде с образованием комплекса фиолетового цвета (тест Легала). Тест позволяет обнаруживать 5 мг/дл ацетоуксусной кислоты или 50 мг/дл ацетона. Поля цветовой шкалы соответствуют следующим концентрациям ацетоуксусной кислоты: 0 (отрицат.), 25(+), 100(++) и 300(+++) мг/дл, или, соответственно, 0 (отрицат.), 2,5(+), 10(++), и 30(+++) ммоль/л.

У здоровых пациентов моча не содержит кетонов. Появление их в моче может быть вызвано физиологическим стрессом (голодание, беременность, интенсивные занятия спортом). Тест не выяв-

ляет β -гидроксимасляную кислоту. Высокие концентрации фенилкетонов, а также фталеиновые соединения влияют на результаты, вызывая окрашивание тестовой области.

Аскорбиновая кислота: Тест основан на изменении окраски реактива Тиллмана. В присутствии аскорбиновой кислоты имеет место переход цвета от синего к красному. Поля цветовой шкалы соответствуют следующим значениям концентрации: 0 (отрицат.), 20(+) и 40(++) мг/дл, или, соответственно, 0 (отрицат.), 1,1(+) и 2,3(++) ммоль/л.

При получении положительного результата теста на аскорбиновую кислоту, тесты на глюкозу и кровь должны быть проведены повторно, однако не ранее, чем через 10 часов после последнего приема витамина С, поскольку содержание последнего даже на уровне 5 мг/дл может помешать определению низких концентраций глюкозы и крови в моче.

Глюкоза: Тест основан на глюкозооксидазно/пероксидазной реакции, специфичной для глюкозы. На любые другие сахара тест не реагирует. В норме глюкоза не определяется в моче, не смотря на то, что небольшое количество ее выделяется здоровыми почками. Окрашивание тестовых полей в диапазоне до 50 мг/л (2,8 ммоль/л) следует считать нормой. Поля цветовой шкалы соответствуют следующим значениям концентрации: отрицат. (желтый), отрицат./норма (зеленоватый), 50 (2,8), 150 (8,3), 500 (28) и 1000 (56) мг/дл (ммоль/л).

Высокие концентрации аскорбиновой кислоты в сочетании с низкими концентрациями глюкозы (до 250 мг/дл), способны приводить к заниженным или ложноотрицательным результатам. В этом случае тест следует повторить через день после прекращения поступления витамина С (см. результаты теста на аскорбиновую кислоту). Гентизиновая кислота, повышенная кислотность (рН <5) и высокая относительная плотность мочи также оказывают ингибирующий эффект на тест. Ложноположительные результаты могут быть вызваны следами перекисей, содержащихся в моющих средствах.

Белок: Тест основан на протеиновом сдвиге кислотно-основного индикатора. Тест обладает большей чувствительностью к концентрации альбумина, чем к уровню других белков в моче. Поля цветовой шкалы соответствуют следующим значениям концентрации альбумина: отрицат., 30 (0,3), 100 (1,0) и 500 (5,0) мг/дл (г/л).

Количество белка, экскретируемое почками в норме, ниже этой величины. При выраженной протеинурии концентрация белка в моче обычно выше 30 мг/дл. Ложноположительные результаты могут наблюдаться при приеме препаратов хинина, для сильнощелочных образцов (рН >9), образцов с высокой плотностью, при инфузиях поливинилпирролидона (кровезаменителя), а также при загрязнении емкости для сбора мочи дезинфицирующими средствами, содержащими четвертичные аммониевые группы. Положительные результаты теста могут маскироваться присутствующими в моче диагностическими или терапевтическими красителями (например, метиленовым синим).

Кровь: Тест основан на псевдопероксидазной активности гемоглобина и миоглобина, катализирующего окисление индикатора в присутствии органической гидроперекиси, дающее зеленую окраску. Минимальная чувствительность теста составляет 5 эритроцитов/мкл мочи, что соответствует, приблизительно, 0,015 мг гемоглобина/дл мочи. На этикетке флакона приведены две цветные шкалы: для выявления неразрушенных эритроцитов и свободного гемоглобина (0, 5-10, 50 и 300 эритроцитов/мкл). Целые эритроциты оставляют на тестовой области окрашенные пятна, гемоглобин и миоглобин вызывает гомогенное зеленое окрашивание.

Высокие концентрации аскорбиновой кислоты, которые могут иметь место в моче после приема витамина С, способны приводить к заниженным или ложноотрицательным результатам (для контроля используйте тестовую область на аскорбиновую кислоту). Ингибирующий эффект на пероксидазную активность оказывает гентизиновая кислота, мочевиная кислота, глутатион. Ложноположительные результаты могут быть вызваны следами перекисей, содержащихся в моющих средствах, присутствием формалина, а также вследствие оксидазной активности микроорганизмов (при инфицировании уро-генитального тракта).

рН: Тест основан на принципе двойного индикатора, дает диапазон окраски от оранжевого через желтый и зеленый до бирюзового и позволяет различать рН в диапазоне от 5 до 9. У здоровых лиц уровень рН свежей мочи обычно находится в диапазоне от 5 до 6. Вторичное бактериальное заражение образцов может быть причиной неправильных результатов. Красное окрашивание края поля на границе с полем для определения нитритов не должно приниматься во внимание.

Нитриты: Цветной тест основан на реакции Грисса, позволяющей обнаруживать микроорганизмы, восстанавливающие нитраты до нитритов. Состав реагентов включают амин и связывающий компонент. Красное окрашивание образуется за счет образования из амина диазосоединения и его последующего связывания. Чувствительность теста составляет от 10^5 микроорганизмов / мл мочи. Любая степень окрашивания в розово-красный цвет свидетельствует о бактериальной инфекции мочевыводящих путей. Интенсивность окраски зависит только от концентрации нитритов и не связана со степенью инфицирования.

Отрицательный результат исследования не исключает выраженной бактериурии и может быть следствием недостаточной инкубации или инфицирования бактериями, не содержащими нитрат-редуктазы. За три дня до проведения анализа пациент должен прекратить прием антибиотиков и/или аскорбиновой кислоты, так как эти препараты могут вызвать ложноотрицательный результат (см. результаты теста на аскорбиновую кислоту), ограничить потребление овощей и жидкости. К ложноотрицательным результатам может привести также крайне низкое содержание нитратов в моче, вследствие «безнитратной» диеты, или ее низкая концентрация (диурез). Ложноположительный результат может быть следствием вторичного заражения мочи микроорганизмами (после взятия пробы), а также присутствия в моче диагностических или терапевтических красителей. Красное или синее окрашивание краев тестовой области не должно рассматриваться как положительный результат.

Лейкоциты: Тест основан на эстеразной активности гранулоцитов. Спирт, образующийся при ферментативном расщеплении эфира карбоксикислоты, содержащейся в тестовой области, реагирует с солью диазония с образованием фиолетового красителя. Интенсивность окраски пропорциональна количеству лейкоцитов в моче и позволяет определять их концентрацию в диапазоне 10-25 лейкоцитов/мкл мочи. Цвет тестовой области, не совпадающий с отрицательным полем контрольной шкалы, и бледно-фиолетовая окраска через 2 минуты рассматриваются как положительный результат. Поля цветовой шкалы соответствуют следующим концентрациям лейкоцитов: отрицат. (норма), 25, 75, 500 лейкоцитов/мкл

Высокие концентрации глюкозы, щавелевой кислоты, а также прием пациентом препаратов, содержащих цефалексин, цефалотин и тетрациклин могут привести к ослаблению реакции. Интенсивная окраска мочи (например, нитрофурантоином) также способна повлиять на результаты анализа. При анализе женской мочи примесь влагалищных выделений может приводить к ложноположительным результатам.

Чистое поле: Не предназначено для диагностики.

Удельный вес / Плотность: Тест основан на принципе ионного обмена между электролитом тестовой области и ионами, растворенными в моче. Ионообмен вызывает изменение окраски кислотно-основного индикатора от синего (для образцов с низкой ионной силой) до желтого (для концентрированной мочи).

Тест позволяет определять значения удельного веса в диапазоне от 1,000 до 1,030. Моча здорового взрослого человека имеет удельный вес от 1,015 до 1,025. Цветовая шкала оптимизирована для мочи с pH = 6. Результаты могут занижаться при щелочном характере мочи (pH > 8) и завышаться при повышенной кислотности мочи (pH < 6). Глюкоза и мочевины не влияют на результаты исследований.

2.2. Состав наборов

Тест-полоски Combina Glucose, Combina 2, Combina 3, Combina 9SG рассчитаны на 50 определений.

Тест-полоски Combina 11S рассчитаны на 150 определений.

Реагенты тестовых областей:

Билирубин: соль диазония 3,1%

Уробилиноген: соль диазония 3,6%

Кетоны: нитропруссид натрия 2%

Аскорбиновая кислота: 2,6-дихлорфенолиндофенол 0,7%

Глюкоза: глюкозооксидаза 2,1%; пероксидаза 0,9%; о-толидингидрохлорид 5,0%

Белок: тетрабромфеноловый синий 0,2%

Кровь: тетраметилбензидин дигидрохлорид 2%; гидроперекись изопропилбензола 21%

pH: метиловый красный 2%, бромтимоловый синий 10%

Нитриты: тетрагидробензохинолин-3-ол 1,5%; сульфаниловая кислота 1,9 %

Лейкоциты: эфир карбоксикислоты 0,4%, соль диазония 0,2%

Удельный вес/Плотность: бромтимоловый синий 2,8%

Каждый набор тест-полосок комплектуется инструкцией по применению.

Точный состав реагентов тестовых областей указан в инструкции к конкретному набору.

3. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- 1) Тест-полоски предназначены только для *in vitro* диагностики.
- 2) При работе с исследуемыми образцами не принимайте пищу и не курите.
- 3) При работе с тест-полосками следует надевать резиновые или пластиковые перчатки одноразового пользования.
- 4) Тщательно убирайте загрязнения, используя соответствующие дезинфицирующие средства.

4. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

При определении исследований используются свежесобранные, хорошо перемешанные и нецентрифугированные образцы мочи (образцы должны быть проанализированы в течение 4 часов после взятия). Рекомендуется использовать образцы первой утренней мочи. Образцы мочи должны быть защищены от света. Собирайте образцы мочи в чистые емкости. Следы консервантов, дезинфицирующих средств и детергентов могут влиять на результаты.

5. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

- 1) Не дотрагивайтесь до тестовой области полоски.
- 2) После извлечения нужного количества полосок тщательно закрывайте контейнер.
- 3) Примерно на 1-2 секунды погрузите полоску в мочу, так, чтобы намочить все тестовые области.
- 4) Удалите излишек мочи с тест-полоски, проведя краем полоски по емкости с мочой.
- 5) Чтобы исключить интерференцию соседних тестовых областей, держите полоску горизонтально.
- 6) Через 30-60 секунд (для лейкоцитов через 120 секунд) сравните цвета всех тестовых областей с соответствующими цветовыми шкалами на этикетке контейнера для полосок. Сравнение должно проводиться не позднее, чем через 2 минуты! Окрашивание тестовых областей по краям не имеет значения, и учитываться не должно.
- 7) До сих пор доподлинно не известно влияние препаратов или их метаболитов на результаты отдельных тестов. В сомнительных случаях рекомендуется повторить тест после отмены препарата.
- 8) Чувствительность зависит от самой мочи.
- 9) Результаты полуколичественного анализа не достаточно для постановки диагноза.

6. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для тест-полосок Combina 11S кроме визуальной оценки результатов тестов, возможно считывание результатов определения на приборе Combilyzer VA или Combilyzer фирмы HUMAN GmbH (ФРГ), которое проводится в соответствии с Руководством пользователя на данный прибор.

7. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРОВ

- 1) Тест-полоски следует хранить при температуре от 2 до 30 °C в сухом темном месте в плотно закрытых оригинальных упаковках с влагопоглотителем.
- 2) Предохраняйте тест-полоски от воздействия влаги, прямого солнечного света, и повышенных температур.
- 3) При соблюдении надлежащих условий хранения тест-полоски могут использоваться до истечения срока годности, указанного на упаковке набора.

8. УПАКОВКА

Тест-полоски в пластиковом флаконе с крышкой упакованы в картонную коробку с соответствующей маркировкой.

Начальник отдела продукции

Бланк К.И.