

Інструкція
для медичного використання
Набір реактивів для визначення концентрації сечовини
в біологічних рідинах

Набір призначений для визначення концентрації сечовини в сироватці крові та сечі діацетилмонооксимним методом в клініко-діагностичних та біохімічних лабораторіях.

Принцип методу

Сечовина з діацетилмонооксимом в кислому середовищі в присутності тіосемикарбозиду та іонів трьохвалентного заліза утворює забарвлений комплекс. Інтенсивність цього забарвлення пропорційна концентрації сечовини.

Дослідний матеріал

Свіжа сироватка крові або розведена сеча. Сечу перед проведенням дослідження фільтрують і розводять фізіологічним розчином у співвідношенні 1:25 – 1:100, результат перемножують на коефіцієнт розведення.

Склад набору

1. Реактив №1 – розчин діацетилмонооксиму	2 ампули по 5 мл
2. Реактив №2 – розчин тіосемикарбозиду	2 ампули по 5 мл
3. Калібрувальний розчин сечовини 16,65 ммоль/л	3 мл
4. Розчин трихлороцтової кислоти 50%	5 мл
5. Концентрований розчин підкислювача	25 мл

Аналітичні характеристики

Лінійність	до 25 ммоль/л
Коефіцієнт варіації	не більше 5%
Час інкубації	10 хв при 100°C
Стабільність забарвлення	не менше 15 хв

Обладнання та реагенти

- Фотометричне обладнання, що здатне вимірювати оптичну щільність розчинів на довжині хвилі (540-560) нм (зелений світлофільтр) з оптичним шляхом 5 мм або 10 мм.
- Колба мірна місткістю 50 мл, 100 мл, 200 мл (ГОСТ 1770-79).
- Піпетки 0,1 мл, 1 мл (ГОСТ 29227-91).
- Пробірки місткістю 5 - 10 мл.
- Фізіологічний розчин.
- Вода дистильована.

Приготування розчинів

Робочий розчин.

В колбу на 100 мл налити близько 50 мл дистильованої води, кількісно додати вміст однієї ампули з реактивом №1 та однієї ампули з реактивом №2. Перемішати і зразу ж довести дистильованою водою до мітки. Зберігати у флаконі з темного скла при температурі від +2°C до +8°C не більше 10 днів.

Розчин підкислювача.

В колбу на 200 мл налити близько 100 мл дистильованої води, кількісно додати вміст флакону з концентрованим розчином підкислювача. Перемішати, довести дистильованою водою до мітки. Розчин стійкий.

Розчин трихлороцтової кислоти 5%.

В колбу на 50 мл налити близько 30 мл дистильованої води, кількісно додати вміст ампули з трихлороцтовою кислотою. Перемішати і довести дистильованою водою до мітки. Розчин стійкий.

Калібрувальний розчин сечовини – готовий до роботи.

Проведення аналізу

Внести в пробірки дослідні біологічні розчини і реагенти згідно таблиці **не порушуючи послідовність**.

Реактиви	Дослідна проба, мл	Калібрувальна проба, мл	Холоста проба, мл
Робочий розчин	1,0	1,0	1,0
Розчин підкислювача	1,0	1,0	1,0
Біологічна рідина	0,01	-	-
Калібрувальний розчин сечовини	-	0,01	-
Фізіологічний розчин	-	-	0,01

Реакційні суміші ретельно перемішують, закривають ковпачками із алюмінієвої фольги та інкубують 10 хв на **киплячій** водяній бані. Після закінчення інкубації пробірки охолоджують у проточній холодній воді і вимірюють на фотометрі оптичну щільність дослідної і калібрувальної проби проти холостої.

Забарвлення стабільне на протязі 15 хв після закінчення інкубації.

Розрахунок концентрації сечовини проводять за формулою:

$$C = (E_{\text{досл}}/E_{\text{каліб}}) \cdot 16,65 \text{ [ммоль/л]},$$

де $E_{\text{досл}}$ і $E_{\text{каліб}}$ – оптична щільність дослідної і калібрувальної проби;

C – концентрація сечовини в біологічній рідині виражена в ммоль/л.

При визначенні сечовини в ліпімічних чи гемолітичних виворотках пробу депротейнізують 5%-ю трихлороцтовою кислотою. Для цього 0,1 мл сироватки змішують з 1,0 мл розчину трихлороцтової кислоти і центрифугують. Таким же чином готують пробу з калібрувальним розчином сечовини. Для досліду відбирають 0,1 мл центрифугата. Використовуючи трихлороцтову кислоту можна досліджувати і цільну кров.

Нормальні величини

у сироватці крові від 2,5 ммоль/л до 8,3 ммоль/л (15-50 мг/дл);

у сечі від 330 ммоль/добу до 580 ммоль/добу (20-35 г/добу).

Контроль якості

Достовірність визначення концентрації сечовини контролюють атестованими контрольними сироватками «Ліонорм» (Чехія), «Біоконт» (Росія)

Примітка

- Якщо вміст сечовини в біологічній рідині більше 20 ммоль/л, то її потрібно розвести фізіологічним розчином, а результат помножити на коефіцієнт розведення.

- Не порушуйте послідовність змішування реактивів – до робочого розчину спочатку додавайте розчин підкислювача, лише потім додавайте дослідну рідину.

Запобіжні заходи

Набір призначений для *in vitro* діагностики професійно підготовленим лаборантом.

Роботи потрібно виконувати в захисних рукавичках, оскільки кров людини слід розглядати як потенційно інфіковану.

Під час роботи використовувати засоби індивідуального захисту, забороняється їсти, пити, курити.

Слід виконувати правила безпеки при роботі з кислотами та отруйними речовинами (тіосемикабазид).

Умови зберігання

Реактиви з яких складається набір зберігати при температурі від +2°C до +8°C.

Література

1. Breinek P., Bouda J.: Vnitřní lek. 2, 186, 170
2. Камышников В.С. «Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике», т.1, стр.280-289, Минск, «Беларусь», 2000.
3. Медицинские лабораторные технологии. Справочник/ Под ред. А.И.Карпищенко, т.2, стр. 97-99, Санкт-Петербург, «Интермедика», 2002.

Виробник: ТОВ “Генезіс”, Україна.

Адреса: 27503, м.Світловодськ, Кіровоградська обл., вул.Єгорова, 41.