

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения креатинина
в биологических жидкостях (кинетический метод без депротенинизации)

Торговая форма и состав набора

Кат№	R1 Раствор пикриновой кислоты	1 фл*220 см ³
1.084.0.05	R2 Раствор гидроксида натрия	1 фл*220 см ³
	R3 Калибровочный раствор	1 фл*10 см ³

Введение

Креатинин является продуктом неферментативной дегидратации креатина в скелетных мышцах. Количество креатинина генерируемое и выделяемое почками, пропорционально мышечной массе и, обычно выше у мужчин, чем у женщин. Суточное выделение креатинина – относительно постоянная величина, за исключением тяжелых ранений или дегенеративных заболеваний, которые вызывают массивное повреждение мышц. Уровень креатинина в крови и моче зависит от клубочковой фильтрации, поэтому креатинин служит индикатором функционального состояния почек.

Принцип метода

Метод основан на регистрации скорости образования окрашенного комплекса креатинина с пикратом натрия в щелочной среде. Определение проводится без предварительной депротенинизации образцов по двухточечному изменению изменения оптической плотности раствора с неизвестной концентрацией креатинина и калибровочного раствора креатинина в точно фиксированные моменты времени (см. примечание 1).

Аналитические характеристики набора:

Чувствительность: не более 25 мкмоль/дм³.

Линейность: 30-1062 мкмоль/дм³.

Коэффициент вариации: менее 5 %.

Образцы и их стабильность

Гепаринизированная плазма, сыворотка крови, свободные от гемолиза, липемии; моча.

Приготовление рабочего раствора

Для приготовления рабочего раствора (Монореагента) раствор пикриновой кислоты и раствор гидроксида натрия смешивают в соотношении 1:1.

Рабочий раствор рекомендуется хранить в плотно закрытом флаконе в темном месте. Рабочий раствор стабилен не менее 4 недель при 2-8° С или не менее 1 дней при 15-25° С! Предохранять от света и загрязнений!

Перед употреблением рабочий раствор необходимо прогреть до температуры измерения не менее 5 минут.

После приготовления рабочего раствора исходные растворы плотно закрыть!

Проведение анализа

Длина волны: 490-510 нм, кювета 1 см, температура измерений 37°С (в случае, если измерение проводится при других температурах, руководствоваться примечанием 1).

Приготовить пробы в соответствии со схемой определения (объемы компонентов могут быть пропорционально изменены).

Схема 1 Method Sample Start (запуск реакции образцом)

Раствор	Опытная проба, см ³	Калибровочная проба, см ³
Рабочий раствор	1,0	1,0
Инкубировать 5 мин при температуре 37°С		
Образец	0,1	-
Калибровочный раствор	-	0,1

Пробы тщательно перемешать. Через 30 и 90 секунд после добавления анализируемой жидкости к рабочему раствору измерить оптические плотности A_1 и A_2 относительно воздуха или дистиллированной воды для опытной и калибровочной проб. Рассчитать разность значений показателей оптической плотности второго и первого измерений для опытной $\Delta A_{пробы}$ и калибровочной $\Delta A_{калибр.проб}$: $\Delta A_{пробы} = A_2 \text{ пробы} - A_1 \text{ пробы}$; $\Delta A_{калибр.проб} = A_2 \text{ калибр.проб} - A_1 \text{ калибр.проб}$

Схема 2 Method Reagent Start (запуск реакции реагентом)

Раствор	Опытная проба, см ³	Калибровочная проба, см ³
Реагент R1 (раствор пикриновой кислоты)	0,5	0,5
Инкубировать 5 мин при температуре 37°С		
Образец	0,1	-
Калибровочный раствор	-	0,1
Пробы тщательно перемешать.		
Реагент R2 (раствор гидроксида натрия)	0,5	0,5

Пробы тщательно перемешать. Через 30 и 90 секунд после добавления Реагента 2 измерить оптические плотности A_1 и A_2 относительно воздуха или дистиллированной воды для опытной и калибровочной проб. Рассчитать разность значений показателей оптической плотности второго и первого измерений для опытной $\Delta A_{пробы}$ и калибровочной $\Delta A_{калибр.проб}$: $\Delta A_{пробы} = A_2 \text{ пробы} - A_1 \text{ пробы}$; $\Delta A_{калибр.проб} = A_2 \text{ калибр.проб} - A_1 \text{ калибр.проб}$

Расчет

Концентрацию креатинина в исследуемой жидкости ($C_{пробы}$) в мкмоль/дм³ определяют по формуле:

$$C_{пробы} = \frac{\Delta A_{пробы}}{\Delta A_{калибр.проб}} * 177,$$

де 177 – концентрация креатинина в калибровочном растворе, мкмоль/дм³

Параметры для автоматических биохимических анализаторов серии

Mindray BS-120/200/300/330/400

R1 (раствор пикриновой кислоты), R2 (раствор гидроксида натрия)

Настройки для анализатора	
Тест	CREA
№	*
Полное название	Креатинин
№ стандарта	*
Тип реакции	Кинетика
Измеряют против	Воздуха или дист. воды
Первичная длина волны	510 нм
Направление	Увеличение
Время реакции	3-10 комп.
Время инкубации	4
Температура измерений	37°С
Единицы	мкмоль/дм ³
Точность	0,1
Концентрация стандарта	177 мкмоль/дм ³
Соотношение реагент/проба	10:1
Объем R1**	180 мкдм ³
Объем R2**	180 мкдм ³
Объем пробы**	36 мкдм ³
R1 холост	0-0
Смеш холост реаг	0-0
Диапазон линейности	30-1062 мкмоль/дм ³
Предел линейности	-
Чувствительность	Не более 25 мкмоль/дм ³
Коэффициент вариации	Менее 5 %
Верхний предел абсорбции реагента против воды	2,0 Е
Нижний предел абсорбции реагента против воды	0 Е
Предел субстр	0
Коэффициент	-
КАЛИБРОВКА	
Правило калибровки	Двухточечная линейная
Чувствительность	0
Повторы	3
Интервал	7
SD	-
Холостой ответ	0
Предел ошибки	0
Коэффициент корреляции	-

**для BS-200 объемы R1 и R2 могут быть 150 мкдм³, объем пробы 30 мкдм³

При работе с Монореагентом меняются следующие параметры:

R = рабочий раствор (смешать R1 (раствор пикриновой кислоты) и R2 (раствор гидроксида натрия) в соотношении 1:1

Время реакции	3-10 комп.
Время инкубации	4
Единицы	мкмоль/дм ³
Точность	0,1
Объем R**	180 мкдм ³
Объем пробы**	18 мк м ³

* значения вводит оператор.

**для BS-200 объем R может быть 150 мкдм³, объем пробы 15 мкдм³.

Правило калибровки – линейная, на выбор:

двухточечная линейная (физ.раствор/вода+стандарт из набора 1-го уровня)
двухточечная линейная (физ.раствор/вода+мультикалибратор 1-го уровня)
многоточечная линейная (физ.раствор/вода+стандарт из набора 1-го уровня+разведенный 1:1 стандарт из набора в качестве 2-го уровня)
многоточечная линейная (физ.раствор/вода+мультикалибратор 1-го уровня+мультикалибратор 2-го уровня)

Нормальные значения

Сыворотка:	женщины	44-95 мкмоль/дм ³
	мужчины	53-110 мкмоль/дм ³
Суточная моча		8,8-15,9 ммоль/дм ³

Примечания

1. Для ручных методик: при температуре 25°С измерения следует проводить через 30 и 120 секунд после начала реакции, при температуре ниже 25°С рекомендуется увеличить длительность проведения реакции до 10 секунд на каждый градус.

При 37°С можно проводить измерения через 30 и 60 секунд после начала реакции, увеличивать время реакции более 90 секунд не рекомендуется.

2. Мочу перед определением креатинина необходимо разбавить дистиллированной водой в 50-100 раз, а полученный результат умножить на кратность разведения. При анализе сыворотки крови в случае выявления низкого содержания креатинина рекомендуется увеличить объем пробы не менее чем в 2 раз (уменьшив соответственно результат анализа во столько же раз). При этом необходимо довести объемы калибровочной пробы дистиллированной водой до объема опытной пробы.

Условия хранения набора

Набор должен храниться при температуре 15-25°С в упаковке предприятия изготовителя в течение всего срока годности (12 месяцев).