

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»
Е.Н.Схолль-Энгбертс
«25» _____ 2016 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения концентрации креатинина
в сыворотке (плазме) крови и моче энзиматическим кинетическим методом

(КРЕАТИНИН-ВИТАЛ)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для определения концентрации креатинина в сыворотке (плазме) крови и моче энзиматическим кинетическим методом (КРЕАТИНИН-ВИТАЛ) предназначен для количественного определения концентрации креатинина в сыворотке (плазме) крови и моче в клиничко-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике. Набор предназначен для работы на автоматических и полуавтоматических фотометрах с термостатированием.

Набор рассчитан на проведение 100 определений при расходе 0,5 мл рабочего реагента на один анализ.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Креатинин гидратируется креатинин-деиминазой (CRIM1) до N-метилгидантоина и свободного иона аммония. Ион аммония под действием L-глутаматдегидрогеназы окисляет NADPH в NADP⁺. Скорость окисления β-NADPH пропорциональна концентрации креатинина в пробе и измеряется фотометрически при длине волны 340 нм.

СОСТАВ НАБОРА

В состав набора входят:

- реагент 1: буфер, pH 8,5, состоящий из трис-HCl, 100 ммоль/л и натрия тартрата, 7 ммоль/л – 1 флакон (50 мл);
- реагент 2: лиофилизированная смесь (конечная концентрация в рабочем реагенте: креатининдеиминаза, 1500 ед/л; L-глутаматдегидрогеназа, 30000 ед/л; α-кетоглутаровая кислота, 9 ммоль/л; детергент Бридж 35, 6 г/л; β-NADPH, 0,2 ммоль/л; бычий сывороточный альбумин, 2 мг/мл) – 5 флаконов.
- калибратор: калибровочный раствор калибровочный раствор креатинина, 17,7 ммоль/л; кислота соляная, 100 ммоль/л – 1 флакон (1,0 мл).

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Линейная область определения концентрации креатинина - в диапазоне от 25 до 885 мкмоль/л, отклонение от линейности - не более 6%.

Чувствительность определения - не более 21 мкмоль/л.

Коэффициент вариации результатов определений – не более 6 %.

Качество набора может проверяться по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам с известной концентрацией креатинина, аттестованным данным методом.

Калибратор в наборе восходит к стандартным материалам NIST.

Нормальные величины содержания креатинина в сыворотке (плазме) крови составляют 53-97 мкмоль/л (мужчины) и 44-80 мкмоль/л (женщины), в суточной моче – 4,4-17,7 ммоль/сут.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон значений нормальных величин для обследуемого контингента.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Меры предосторожности - соблюдение «Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

При работе с кровью необходимо надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Согласно классификации по СанПиН 2.1.7.2790-10 компоненты набора могут быть отнесены к классу «Г». Утилизацию использованных реагентов и реагентов с истекшим сроком годности производить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 в отношении отходов класса «Г».

Не допускается использование серии набора по истечении срока ее годности.

ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка (плазма) крови, суточная моча.

Перед проведением анализа мочу следует развести дистиллированной водой в 50 раз. Полученную пробу можно хранить при температуре +2-8°C не более суток; при необходимости более длительного хранения - заморозить до температуры -20°C и хранить не более 1 мес.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- Спектрофотометр, длина волны 340 нм, термостатируемая кювета с длиной оптического пути 10 мм; полуавтоматический или автоматический биохимический анализатор открытого типа;
- секундомер;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменяемыми наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,01 мл; 0,05 мл; 0,5 мл и 0,99 мл;
- вода дистиллированная;
- колба коническая вместимостью 100 мл;
- перчатки резиновые или пластиковые.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО РЕАГЕНТА

Содержимое одного флакона с реагентом 2 растворить в 10 мл реагента 1 и после полного растворения лиофилизата выдержать при комнатной температуре (+18-25°C) в течение 5-10 мин.

Полученный рабочий реагент можно хранить в темном месте при температуре +2-8°C не более 20 сут.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ КАЛИБРАТОРА

Необходимое количество калибратора развести перед использованием в 100 раз дистиллированной водой (например, 10 мкл калибратора + 990 мкл дистиллированной воды).

Разведенный калибратор можно хранить при температуре +2-8°C не более 7 дней.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Набор предназначен для определения содержания креатинина с использованием отечественных или зарубежных спектрофотометров, а также автоматических или полуавтоматических анализаторов.

Непосредственно перед использованием нагреть кювету измерительного прибора, рабочий реагент, анализируемые образцы и разведенный калибратор до температуры +37°C.

Внести в кювету спектрофотометра реагенты и анализируемые пробы в количествах, указанных в таблице.

Таблица

Отмерить, мл	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Рабочий реагент	0,50	0,5	0,5
Калибратор	-	0,05	-
Сыворотка (плазма) или разведенная моча	0,05	-	-
Вода дистиллированная	-	-	0,05

Примечание. Расход рабочего реагента и анализируемых образцов зависит от типа используемого прибора и объема кюветы, объемы могут быть пропорционально изменены.

Калибровочную пробу тщательно перемешать, поместить в кювету, включить секундомер и через 120 сек (точно!) измерить оптическую плотность (E_1) пробы при длине волны 340 нм при температуре +37°C в кювете с длиной оптического пути 10 мм против воздуха; через 60 сек (точно!) повторно измерить оптическую плотность (E_2). Повторить измерение для опытной и контрольной (холостой) проб при тех же условиях.

РАСЧЕТЫ

Вычислить изменения оптической плотности для опытной и калибровочной проб по следующим формулам:

$$\Delta E_{\text{оп}} = (E_1 - E_2)_{\text{оп}} - (E_1 - E_2)_{\text{кон}};$$

$$\Delta E_{\text{кал}} = (E_1 - E_2)_{\text{кал}} - (E_1 - E_2)_{\text{кон}};$$

где: $\Delta E_{\text{оп}}$ - изменение оптической плотности опытной пробы, ед. опт. плотн;

$\Delta E_{\text{кал}}$ - изменение оптической плотности калибровочной пробы, ед. опт. плотн.

Концентрацию креатинина в сыворотке (плазме) крови определить по формуле:

$$C = \frac{\Delta E_{\text{оп}}}{\Delta E_{\text{кал}}} \times 177,$$

где: C – концентрация креатинина, мкмоль/л;

177 – концентрация креатинина в разведенном калибраторе, мкмоль/л.

Содержание креатинина в моче определить по формуле:

$$C = \frac{\Delta E_{\text{оп}}}{\Delta E_{\text{кал}}} \times 0,177 \times 50 \times K,$$

где: C – содержание креатинина, ммоль/сут;

0,177 – концентрация креатинина в разведенном калибраторе, ммоль/л;

K – количество суточной мочи, л;

50 – коэффициент разбавления мочи.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор реагентов для определения концентрации креатинина в сыворотке (плазме) крови и моче энзиматическим кинетическим методом (КРЕАТИНИН-ВИТАЛ) должен храниться при температуре +2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до +25°C не более 5 дней.

Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре 2-8°C. Допускается транспортирование наборов при температуре до 25°C не более 5 сут.

Габаритные размеры набора - 121×88×53 мм, вес нетто – 155 гр., вес брутто – 185 гр.

Срок годности набора – 12 мес.

Реагент 1 после вскрытия флакона можно хранить при температуре +2-8°C в течение всего срока годности набора.

Рабочий реагент можно хранить в темном месте при температуре +2-8 °C не более 20 дней.

Калибратор после вскрытия флакона можно хранить в темном месте при температуре +2-8 °C в течение всего срока годности набора при условии достаточной герметичности флакона.

Разведенный калибратор можно хранить при температуре +2-8°C не более 7 дней.

Не следует использовать для анализа мутные, гемолизированные, иктеричные или хилезные образцы.

Для отбора и добавления анализируемых проб и компонентов набора рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования.

Если концентрация креатинина в анализируемом образце превышает 885 мкмоль/л, образец следует развести физиологическим раствором в 4 раза, повторить анализ и полученный результат умножить на 4.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» по адресу:

194 156, Санкт-Петербург, пр. Энгельса, д. 27, корп. 38, лит. К, пом. 18, 19.

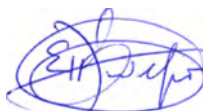
Тел/факс: (812) 326-61-98.

и в испытательную лабораторию ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» по адресу:

125 367, Москва, Полесский проезд, д. 2, корп. 1, пом. 3.

Тел.: (495) 942-53-39.

Генеральный директор
ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»



Е.Н. Схолль-Энгбертс

Научный руководитель испытательной лаборатории
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
д. м. н., профессор



В.В.Долгов

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 4 ЛИСТОВ
« 24 ФЕВ 2016 201__ год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ – МЕДЦЕНТР»

П.К. Варнавичус

