

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 20__ г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ЗАО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

2013 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения концентрации
креатинина кинетическим методом Яффе с движущейся холостой пробой и компенсацией
в сыворотке, плазме крови и моче
«Креатинин-Ново-А (биреагент)»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов Креатинин-Ново-А (биреагент) предназначен для определения концентрации креатинина в сыворотке, плазме крови и моче человека кинетическим методом Яффе с движущейся холостой пробой и компенсацией. Набор может быть использован в клинико-диагностических и биохимических лабораториях, и научно-исследовательской практике.

1.2. Набор выпускается в 6 вариантах комплектации:

- вариант 1 *авто* (100 определений при расходе 0,8 мл реагента 1 на одно определение);
- вариант 2 *авто* (500 определений при расходе 0,8 мл реагента 1 на одно определение);
- вариант 3 *авто* (без калибратора, предназначен для проведения дополнительного определения концентрации креатинина);
- вариант 4 *авто* (калибратор, предназначен для проведения дополнительной калибровки);
- вариант 5 *авто*;
- вариант 6 *авто* (без калибратора, предназначен для проведения дополнительного определения концентрации креатинина).

Количество реагентов в вариантах 3 *авто* и 4 *авто* набора определяется согласованным с производителем техническим заданием потребителя.

Инструкция составлена сотрудниками ЗАО «Вектор-Бест»: начальником отдела биохимии, к.б.н. Г.Е. Яковлевой.

Объём компонентов и их расфасовка в вариантах 5 авто и 6 авто набора определяется вместимостью картриджей для данной модели анализатора.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Действие набора основано на взаимодействии креатинина с пикриновой кислотой в щелочной среде с образованием продукта оранжевого цвета (реакция Яффе). Скорость изменения окраски реакционной смеси в процессе реакции пропорционально концентрации креатинина в образце и определяется фотометрически при длине волны 500 (490-510) нм.

Учет скорости изменения холостой пробы позволяет минимизировать интерференцию с билирубином. Коррекция неспецифических реакций псевдокреатининовых хромогенов (белка, кетонов и других), содержащихся в сыворотке и плазме крови, проводится путем вычитания 26 мкмоль/л из результата определения креатинина в образцах сыворотки и плазмы крови соответственно.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

– реагент 1 (P1): раствор натрия гидроокиси, 0,2 моль/л, готовый к использованию – 1 флакон (80 мл) (вариант 1 авто); 2 флакона (по 200 мл) (вариант 2 авто); 1-10 флаконов (вариант 3 авто); 1-10 картриджей (варианты 5 авто, 6 авто);

– реагент 2 (P2): раствор пикриновой кислоты, 0,025 моль/л, готовый к использованию – 1 флакон (20 мл) (вариант 1 авто); 2 флакона (по 50 мл) (вариант 2 авто); 1-10 флаконов (вариант 3 авто); 1-10 картриджей (варианты 5 авто, 6 авто);

– калибратор: калибровочный раствор креатинина с концентрацией 240 мкмоль/л, готовый к использованию – 1 флакон (3,0 мл) (вариант 1 авто); 2 флакона (по 3,0 мл) (вариант 2 авто); 1-5 флаконов (вариант 4 авто); 1-2 флакона (вариант 5 авто).

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Линейность. Линейная область определения концентрации креатинина – в диапазоне от 25 до 3800 мкмоль/л. Отклонение от «линейности» - не более 5%.

3.2. Чувствительность определения – не более 20 мкмоль/л.

3.3. Коэффициент вариации результатов определений – не более 5%.

3.4. Нормальные величины концентрации креатинина:

– в сыворотке и плазме крови: женщины – 53-106 мкмоль/л;

мужчины – 71-115 мкмоль/л;

– в суточной моче: 4,4-17,6 ммоль/сут.

3.5. Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить диапазон нормальных величин концентрации креатинина у исследуемого контингента людей.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

4.2. Реагент 1 содержит натрия гидроокись, а реагент 2 – пикриновую кислоту. При работе с этими реагентами следует избегать попадания растворов на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с исследуемыми образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г. и методических указаниях МУ-287-113-00.

4.3. При работе с набором следует 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 вирусных инфекций.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

– автоматический биохимический анализатор (длина волны 500 (490-510) нм, термостатируемая кювета с длиной оптического пути не менее 5 мм, программа анализатора позволяет вычитать движущуюся холостую пробу);

– пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 100-1000 мкл;

– ёмкости для образцов (в зависимости от типа автоматического биохимического анализатора);

– перчатки резиновые или пластиковые;

– вода дистиллированная;

– физиологический раствор (0,9% NaCl).

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка, гепаринизированная и ЭДТА плазма крови, моча человека.

Образцы сыворотки и плазмы крови можно хранить при комнатной температуре (+18-25 °C) не более 1 сут, при температуре +2-8 °C не более 3 сут или при температуре минус 20 °C и ниже – не более 3 мес.

Мочу перед анализом развести дистиллированной водой в 25 раз.

107

Разведенные образцы мочи можно хранить при комнатной температуре (+18-25 °С) не более 12 ч.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Перед началом работы кюветы автоматического биохимического анализатора нагреть до температуры $+37 \pm 0,5$ °С. При измерении оптической плотности постоянно поддерживать температуру $+37 \pm 0,2$ °С.

7.2. Картриджи с реагентами (P1 и P2) установить в штатив для реагентов.

7.3. Калибратор и анализируемые образцы налить в емкости для образцов и расставить в штатив в соответствующие позиции.

7.4. В реагент 1 внести анализируемый образец, перемешать и инкубировать при температуре $+37 \pm 0,2$ °С в течение 2-5 минут.

В процессе инкубации измерить оптическую плотность через 30 сек после добавления образца (E_1) и через 90-240 сек (T_1) после первого измерения (E_2) при длине волны 500 (490-510) нм (*холостое измерение*).

В реакционную смесь добавить реагент 2, перемешать и инкубировать при температуре $+37 \pm 0,2$ °С в течение 90 сек.

В процессе инкубации измерить оптическую плотность реакционной смеси через 30 сек после добавления реагента 2 (E_3) и через 60 сек (T_2) после третьего измерения (E_4) (*основное измерение*).

Примечание. В зависимости от объема кюветы используемого анализатора количество реагентов и анализируемого образца (О) или калибратора (К) может быть пропорционально изменено, соотношение в реакционной смеси P1:O(K):P2 должно остаться постоянным и составлять 16:1:4.

7.5. Провести аналогичное измерение оптической плотности калибратора, согласно п. 7.4., добавляя калибратор вместо образца.

7.6. Определить концентрацию креатинина в сыворотке, плазме крови (мкмоль/л) по формуле:

$$C = \frac{\Delta E}{\Delta E_K} \times C_K - 26,$$

где: C – концентрация креатинина, мкмоль/л;

C_K – концентрация креатинина в калибраторе, мкмоль/л;

26 – компенсация интерференции с белком сыворотки крови, мкмоль/л;

ΔE – разность скоростей изменения оптических плотностей *основного измерения* и *холостого измерения* (движущейся холостой пробы) в анализируемом образце, ед. опт.

плотн., вычисляется по формуле:

$$\Delta E = \frac{E_4 - E_3}{T_2} - K \times \frac{E_2 - E_1}{T_1},$$

ΔE_K – разность скоростей изменения оптических плотностей *основного измерения* и *холостого измерения* (движущейся холостой пробы) в калибраторе, ед. опт. плотн., вычисляется по формуле:

$$\Delta E_K = \frac{E_{K4} - E_{K3}}{T_2} - K \times \frac{E_{K2} - E_{K1}}{T_1},$$

где: K – коэффициент коррекции объема (при соотношении P1:O(K):P2 = 16:1:4 составляет 0,81);

T_1 – время *холостого измерения*, мин;

T_2 – время *основного измерения*, мин.

Концентрацию креатинина в суточной моче (M , ммоль/сут) определить по формуле:

$$M = \frac{\Delta E}{\Delta E_K} \times C_K \times 25 \times V \times 0,001,$$

где: 25 – коэффициент разведения мочи;

V – количество мочи, собранное за сутки, л/сут;

0,001 – коэффициент пересчета мкмоль в ммоль.

7.7. Определение концентрации креатинина на автоматическом биохимическом анализаторе проводить по соответствующим загрузочным листам, используя основные параметры:

Длина волны в диапазоне	500 (490-510) нм
Измерение против	Воды
Метод измерения	Фиксированное время/кинетическое измерение
Единица измерения	мкмоль/л
Число знаков после запятой	0
Изменение оптической плотности	Возрастает
Температура	+37±0,2 °C
Соотношение P1:O(K):P2	16:1:4

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

8.1. Набор реагентов Креатинин-Ново-А (биреагент) должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2-8 °C в течение всего срока годности (24 мес). Допускается хранение наборов при температуре до +25 °C не более 10 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

8.2. Реагент 1 и реагент 2 после вскрытия флаконов можно хранить при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности набора в плотно закрытом виде, в защищенном от света месте.

8.4. Калибратор после вскрытия флаконов можно хранить при температуре +2-8 °С не более 3 мес в плотно закрытом виде, в защищенном от света месте.

8.5. Для проведения анализа использовать негемолизированную сыворотку крови, гепаринизированную и ЭДТА плазму крови, мочу человека.

8.6. Образцы сыворотки и плазмы крови можно хранить при комнатной температуре (+18-25 °С) не более 1 сут, при температуре +2-8 °С не более 3 сут или при температуре минус 20 °С и ниже – не более 3 мес.

8.7. Образцы мочи, разбавленной в 25 раз дистиллированной водой, можно хранить при комнатной температуре не более 12 ч.

8.8. Качество набора может проверяться по отечественным и зарубежным контрольным материалам, аттестованным данным методом.

8.9. Для отбора и добавления анализируемых проб и компонентов набора рекомендуется использовать полуавтоматические пипетки со сменными наконечниками, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования.

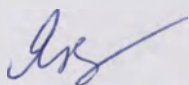
8.10. Если концентрация креатинина в исследуемых образцах сыворотки (плазмы) крови превышает 3800 мкмоль/л, образец следует развести физиологическим раствором в 2 раза, повторить измерения и полученный результат умножить на 2.

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

По вопросам, касающимся качества набора Креатинин-Ново-А (биреагент), следует обращаться в ЗАО «Вектор-Бест» по адресу:

630559, Новосибирская область, Новосибирский район, п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 227-67-64, 227-75-50, тел./факс (383) 363-13-46.

Начальник отдела биохимии
ЗАО «Вектор-Бест», к.б.н.



Г.Е. Яковлева



Прошировано, пронумеровано
и скреплено печатью
6 листов

СН