

УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора
от _____ 20__ г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор

ЗАО «Вектор-Бест»



ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для определения концентрации креатинина
в сыворотке, плазме крови и моче (кинетический метод Яффе без депротеинизации)
(КРЕАТИНИН-НОВО-А)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов КРЕАТИНИН-НОВО-А предназначен для количественного определения содержания креатинина в сыворотке, плазме крови и моче человека кинетическим методом Яффе без депротеинизации в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

1.2. Набор рассчитан, в зависимости от варианта комплектации, на проведение 100 (вариант 1), 200 (вариант 2) или 500 (вариант 3) определений креатинина при расходе 1,0 мл рабочего раствора реагентов на одно определение.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Метод определения основан на том, что креатинин в щелочной среде образует с пикриновой кислотой продукт красно-оранжевого цвета. Изменение окраски реакционной смеси за фиксированное время пропорционально концентрации креатинина в образце и определяется фотометрически при длине волны в диапазоне 490-510 нм.

2.2. Состав набора

Набор может поставляться в трех вариантах комплектации (варианты 1, 2 и 3).

В состав набора входят:

– реагент 1: раствор, содержащий пикриновую кислоту, 43,4 ммоль/л; натрий тетраборпокислый, 40 ммоль/л – 1 флакон (50 мл) (вариант 1), 1 флакон (100 мл) (вариант 2) или

Инструкция составлена сотрудниками ЗАО «Вектор-Бест»: нач. отдела биохимии, к.б.н. Л.В. Гаевой и зам. начальника отдела биохимии, к.б.н. Г.Е. Яковлевой.

14.01.10

С.А.В.

1 флакон (250 мл) (вариант 3);

– реагент 2: раствор натрия гидроокиси, 0,384 моль/л – 1 флакон (50 мл) (вариант 1),

1 флакон (100 мл) (вариант 2) или 1 флакон (250 мл) (вариант 3);

– калибратор: калибровочный раствор креатинина с концентрацией 240 мкмоль/л в соляной кислоте, 0,02 моль/л; готовый к использованию – 1 флакон (3,0 мл) (варианты 1 и 2) или 2 флакона (по 3,0 мл) (вариант 3).

Конечные концентрации в рабочем растворе реагентов:

– пикриновая кислота, 21,7 ммоль/л;

– натрий тетраборнокислый, 20 ммоль/л;

– натрия гидроокись, 0,192 моль/л.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Линейность. Линейная область определения концентрации креатинина – в диапазоне от 25 до 1300 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, плазме крови: женщины – 53-106; 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 и калибратор содержат кислоту, реагент 2 – щелочь. При работе с этими реагентами и рабочим раствором реагентов следует не допускать их попадания на кожу и слизистые оболочки. В случае попадания на кожу и слизистые необходимо промыть поражённые участки большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с набором необходимо соблюдать «Правила 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.).

4.4. 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:

- Полуавтоматический биохимический анализатор (программируемый фотометр с термостатируемой кюветой) или автоматический биохимический анализатор, длина волны в диапазоне 490-510 нм, термостатируемая кювета с длиной оптического пути 10 мм;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости 100 и 1000 мкл;
- пробирки стеклянные вместимостью 5,0-10 мл;
- термостат, поддерживающий температуру $+37 \pm 0,5$ °C;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- секундомер;
- вода дистиллированная.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка, плазма крови, моча человека.

Образцы сыворотки, 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 в стеклянной посуде дистиллированной водой в 25 раз. Разведенные образцы мочи можно хранить при комнатной температуре не более 12 ч.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Приготовление рабочего раствора реагентов.

Содержимое флаконов с реагентом 1 и реагентом 2 смешать в соотношении 1:1 в склянке из темного стекла.

Приготовленный рабочий раствор реагентов можно хранить в плотно закрытом виде в темном месте при температуре $+2-8$ °C не более 2 сут.

7.2. Проведение анализа на полуавтоматическом биохимическом анализаторе (программируемом фотометре с термостатируемой кюветой).

Внести в пробирку необходимое для проведения анализа количество рабочего раствора реагентов (см п. 7.1), поместить в термостат и нагреть до температуры $+37$ °C.

Компоненты реакционной смеси отобрать в количествах указанных в таблице, внести в термостатируемую кювету полуавтоматического биохимического анализатора, поддерживающую температуру $+37 \pm 0,2$ °C, перемешать, включить секундомер и инкубировать.

Таблица

Отмерить, мкл	Опытная проба	Калибровочная проба
Рабочий раствор реагентов	1000	1000
Сыворотка, плазма крови, разведенная моча	100	—
Калибратор	—	100

Через 30 сек после начала инкубации измерить оптическую плотность растворов опытной и калибровочной проб против дистиллированной воды при длине волны 500 (490-510) нм.

Измерения оптической плотности повторить через 60 сек.

При измерении оптической плотности постоянно поддерживать температуру $+37 \pm 0,2$ °C.

7.2.1. Рассчитать концентрацию креатинина в сыворотке, плазме крови (C , мкмоль/л) по формуле:

$$C = \frac{\Delta E}{\Delta E_k} \times C_k,$$

где: ΔE – разность оптических плотностей первого и второго измерения опытной пробы, ед.опт.плотн.;

ΔE_k – разность оптических плотностей первого и второго измерения калибровочной пробы, ед.опт.плотн.;

C_k – концентрация креатинина в калибраторе, мкмоль/л.

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: ΔE – разность оптических плотностей первого и второго измерения опытной пробы, ед.опт.плотн.;

ΔE_k – разность оптических плотностей первого и второго измерения калибровочной пробы, ед.опт.плотн.;

C_k – концентрация креатинина в калибраторе, ммоль/л;

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

25 – коэффициент разбавления мочи;

0,001 – коэффициент пересчета мкмоль в ммоль.

7.3. Проведение анализа на автоматическом биохимическом анализаторе.

Определение концентрации креатинина на автоматическом биохимическом анализаторе провести, используя основные параметры:

Длина волны в диапазоне	490-510 нм
Измерение против	воздуха или воды дистиллированной
Метод измерения	фиксированное время
Единица измерения	мкмоль/л
Число знаков после запятой	0
Изменение оптической плотности	возрастает
Температура	+37 °С
Соотношение образец : реагент	1 : 10
Время инкубации (задержка)	30 с
Время реакции (считывания)	60 с
Число считываний	2
Верхний предел абсорбции реагента против воды	0,45 А
Максимально допустимое изменение оптической плотности/мин	0,54 А
Калибратор (стандарт)	240 мкмоль/л
Линейность	до 1300 мкмоль/л

7.3.1. Внести рабочий раствор реагентов (см п. 7.1) в картридж биохимического анализатора и поместить в реагентную карусель. Внести калибратор и образец (опытную пробу), дистиллированную воду в чашки образца и поместить в соответствующие позиции карусели для образцов.

7.3.2. Измерить концентрацию креатинина в пробах на автоматическом биохимическом анализаторе.

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

8.1. Набор реагентов КРЕАТИНИН-НОВО-А должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2-25°С в течение всего срока годности (2 года). Замораживание компонентов набора не допускается.

8.2. Рабочий раствор реагентов можно хранить в плотно закрытом виде в темном месте при температуре +2-8 °С не более 2 сут.

8.4. Для проведения анализа использовать негемолизированную сыворотку крови, плазму крови, разбавленную мочу.

8.5. Образцы сыворотки, 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.

8.6. Разведенные образцы мочи можно хранить при комнатной температуре не более 12 ч.

8.7. Качество набора может проверяться по отечественным и зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

8.8. 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.

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

По вопросам, касающимся качества набора КРЕАТИНИН-НОВО-А, 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) 336-73-46

и в Лабораторный Центр ФГУ «НЦ ЭСМП» Росздравнадзора по адресу:

117246, Москва, Научный проезд, д. 14А, тел. (499) 120-60-95; 120-60-96.

Зам. начальника отдела биохимии



Г.Е. Яковлева

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



Л.В. Гаева