

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от 16.02 2011 г. № 5024-ПР/К

19 ФЕВ 2016

КОПИЯ ВЕРНА

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ООО "Ольвекс Диагностикум"

ОЛЬВЕКС
ДИАГНОСТИКУМ

ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ
* САНКТ-ПЕТЕРБУРГ *

"15" февраль 2011 г.



С.Н. Чавкин

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения концентрации креатинина
в сыворотке крови и моче (с депротеинизацией)

(КРЕАТИНИН-Д-ОЛЬВЕКС)

(Взамен инструкции, утвержденной 07.08.2006 г.)

Назначение

Набор «КРЕАТИНИН-Д-ОЛЬВЕКС» предназначен для количественного определения содержания креатинина в сыворотке крови и моче человека методом Яффе с депротеинизацией в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и в научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 200 или 500 определений при конечном объеме реакционной смеси 2,0 мл.

Принцип метода

Креатинин в щелочной среде образует с пикриновой кислотой окрашенный комплекс. Интенсивность окраски образовавшегося комплекса прямо пропорциональна концентрации креатинина в анализируемой пробе и измеряется фотометрически при длине волны 505 (490-520) нм.

Состав набора

В состав набора реагентов входят следующие компоненты:

- реагент 1 (пикриновая кислота), содержащий пикриновую кислоту, 35 ммоль/л; готов к применению – 1 флакон (100 мл) или 1 флакон (250 мл);
- реагент 2 (гидроокись натрия), содержащий гидроокись натрия, 750 ммоль/л; готов к применению – 1 флакон (100 мл) или 1 флакон (250 мл);
- реагент 3 (трихлоруксусная кислота), содержащий трихлоруксусную кислоту, 1,22 моль/л; готов к применению - 1 флакон (100 мл) или 1 флакон (250 мл);
- калибратор, содержащий креатинин, 177 мкмоль/л, трихлоруксусную кислоту, 0,244 моль/л; готов к применению - 1 флакон (10 мл) или 1 флакон (20 мл).

Аналитические характеристики

Линейная область определения концентрации креатинина - в диапазоне от 20 до 440 мкмоль/л, отклонение от "линейности" - не более 7%.

Чувствительность определения - не более 10 мкмоль/л.

Коэффициент вариации результатов определений - не более 7%.

Окраска стабильна не более 1 часа.

Качество набора может проверяться при помощи отечественных или зарубежных контрольных сывороток, аттестованных данным методом.

Нормальные величины содержания креатинина в сыворотке крови составляют: у женщин - 53 - 97 мкмоль/л, у мужчин - 61 - 115 мкмоль/л, в моче - 4,4 - 17,7 ммоль/сутки.

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

Анализируемые образцы

Негемолизированная сыворотка крови.

Моча, разведенная дистиллированной водой в соотношении 1:99.

Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 1.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

В состав компонентов набора входят пикриновая кислота, гидроокись натрия и трихлоруксусная кислота. При работе с набором следует не допускать их попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При попадании внутрь следует немедленно выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

При работе с набором необходимо соблюдать "Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противозидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР" (Москва, 1981 г.).

При работе с набором следует использовать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель инфекции.

Оборудование, материалы и реагенты:

- Спектрофотометр, длина волны 505 нм, или электроколориметр, длина волны 490-520 нм, кювета с длиной оптического пути 10 мм;
- центрифуга лабораторная, ускорение 900 g;
- секундомер;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,5 мл; 1,0 мл; 1,5 мл;
- пробирки стеклянные химические вместимостью 5,0-10 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

Подготовка анализируемых образцов к анализу

Подготовка анализируемых образцов сыворотки крови

К 0,5 мл сыворотки крови добавить 1,0 мл дистиллированной воды и 0,5 мл реагента 3. Содержимое пробирок тщательно перемешать и выдержать в течение 10 минут при комнатной температуре ($+18-25^{\circ}\text{C}$), после чего пробы центрифугировать с ускорением 900 g в течение 15 минут при комнатной температуре. Для дальнейшего анализа использовать только прозрачную надосадочную жидкость.

Подготовка анализируемых образцов мочи

Мочу перед проведением анализа развести дистиллированной водой в соотношении 1:99. К 0,5 мл разведенной мочи добавить 1,0 мл дистиллированной воды и 0,5 мл реагента 3. Содержимое пробирок тщательно перемешать и выдержать в течение 10 минут при комнатной температуре, после чего пробы центрифугировать с ускорением 900 g в течение 15 минут при комнатной температуре. Для дальнейшего анализа использовать только прозрачную надосадочную жидкость.

Поставляемый в составе набора калибратор в данной процедуре не нуждается, так как она уже проведена на предприятии-изготовителе.

Для приготовления контрольного раствора смешать 0,5 мл реагента 3 и 1,5 мл дистиллированной воды.

Проведение анализа

Компоненты реакционной среды отобрать в количествах, указанных в таблице.

Таблица

Компоненты реакционной среды	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Надосадочная жидкость образца сыворотки крови или мочи, мл	1,0	-	-
Калибратор, мл	-	1,0	-
Контрольный раствор, мл	-	-	1,0
Реагент 2, мл	0,5	0,5	0,5
Реагент 1, мл	0,5	0,5	0,5

Пробы тщательно перемешать и инкубировать при комнатной температуре (+18–25°C) в течение 20 минут (точно!), после чего измерить оптическую плотность опытной и калибровочной проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 505 (490-520) нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм. Окраска раствора стабильна не более 1 часа.

Расчеты

Концентрацию креатинина рассчитать по формуле:

а) в сыворотке крови (С, мкмоль/л):

$$C = \frac{E_{np}}{E_{kal}} \times 177 ,$$

где: E_{np} - оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. плотн.;

E_{kal} - оптическая плотность калибратора, ед. опт. плотн.;

177 - концентрация креатинина в калибраторе, мкмоль/л.

б) в моче (С, ммоль/сутки):

$$C = \frac{E_{np}}{E_{kal}} \times 177 \times V \times 100/1000 ,$$

где: E_{np} - оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. плотн.;

E_{kal} - оптическая плотность калибратора, ед. опт. плотн.;

177 - концентрация креатинина в калибраторе, мкмоль/л;

100 - разведение мочи;

1000 - коэффициент пересчета мкмоль в ммоль,

V - суточный диурез, л.

Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при комнатной температуре в течение всего срока годности.

Срок годности набора - 18 месяцев.

Вскрытые флаконы с реагентами 1, 2 и 3 можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытой посуде в течение всего срока годности.

Калибратор после вскрытия флакона можно хранить при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более 3 месяцев.

Если концентрация креатинина в анализируемом образце сыворотки крови или мочи превышает 400 мкмоль/л, его следует развести дистиллированной водой в 2 раза, повторить анализ и полученный результат умножить на 2.

Для проведения анализа рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки со сменяемыми наконечниками, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов дозирования.

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

По вопросам, касающимся качества набора «КРЕАТИНИН-Д-ОЛЬВЕКС», следует обращаться в ООО «Ольвекс Диагностикум» по адресу:

195197, г. Санкт-Петербург, пр. Обуховской обороны, 70.

Тел: (812) 412-84-46, (812) 412-83-02;

Факс: (812) 412-84-29

и в Институт стандартизации и контроля лекарственных средств ФГУ «НЦ ЭСМП» Росздравнадзора по адресу:

117246, г. Москва, Научный проезд, д. 14 А.

Тел: (495) 120-60-95, 120-60-96.

Директор производства

ООО «Ольвекс Диагностикум»

Ющин К.В.

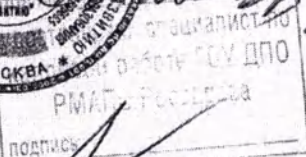
«Согласовано»

Заведующий кафедрой клинической

лабораторной диагностики, ГОУ ДПО

«РМАПО Росздрава»

д.м.н., профессор



Долгов В.В.