

КОПИЯ ВЕРНА

УТВЕРЖДАЮ



Начальник Управления государственного
контроля лекарственных средств и
медицинской техники Минздрава России



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения содержания
креатинина в сыворотке (плазме) крови и моче .

(КРЕАТИНИН - ОЛЬВЕКС)

Рекомендована к утверждению экспертной комиссией по лабораторным реагентам
Комитета по новой медицинской технике Минздрава РФ.
(протокол № 1 от « 23 » февраля 1998г.)

Назначение

Набор предназначен для количественного определения содержания креатинина в сыворотке (плазме) крови и моче человека в клиничко-диагностических и биохимических лабораториях и в научно-исследовательской практике. Набор предназначен для работы на автоматических и полуавтоматических фотометрах с термостатированием.

Набор рассчитан на проведение 200 определений при расходе рабочего реагента 0,5 мл на один анализ.

Принцип метода.

В основе определения лежит измерение скорости образования в щелочной среде окрашенного комплекса креатинина с пикриновой кислотой (реакция Яффе), содержание которого определяется фотометрически при длине волны 505 нм (псевдокинетический двухточечный метод без депротеинизации). Скорость образования комплекса прямо пропорциональна содержанию креатинина в анализируемой пробе.

Состав набора.

В состав набора входят:

- реагент 1 (пикриновая кислота, 20 ммоль/л) - 1 флакон (50 мл);
- реагент 2 (натрия гидроокись, 260 ммоль/л) - 1 флакон (50 мл);
- калибратор (калибровочный раствор креатинина с концентрацией 17,7 ммоль/л) - 1 флакон (2,0 мл).

Составлена канд. биол. наук А.Д. Схолль-Энгбертсом - директором по науке ООО «Ольвекс Диагностикум»

Аналитические характеристики набора.

Чувствительность определения - не более 20 мкмоль/л.

Линейная область определения концентрации креатинина - в диапазоне от 25 до 885 мкмоль/л, отклонение от «линейности» - не более 5%.

Коэффициент вариации результатов определения не превышает 5%.

Нормальные величины содержания креатинина в сыворотке (плазме) крови составляют 53-97 мкмоль/л (мужчины) и 44-80 мкмоль/л (женщины), в суточной моче - 8,8-13,3 ммоль/сут.

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

Большинство веществ, обычно мешающих определению креатинина (билирубин, глюкоза, ацетон и др.), на правильность определения содержания креатинина не влияют.

Анализируемые образцы.

Негемолизированная сыворотка (плазма) крови человека, суточная моча.

Для определения содержания креатинина в свежей суточной моче ее необходимо развести дистиллированной водой в 50 раз. Полученную пробу можно хранить при температуре +2-8°C не более 3 дней; при необходимости более длительного хранения - заморозить до -20°C и хранить до 3-х месяцев.

Меры предосторожности.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Меры предосторожности - соблюдение «Правил 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 реагентом 2 следует соблюдать правила работы со щелочами.

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

Оборудование и материалы.

- Автоматический или полуавтоматический фотометр с термостатируемой кюветой, длина волны 505 нм;
- полуавтоматические одноканальные пипетки со сменяемыми наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 10, 100 и 1000 мкл;
- стеклянные пробирки вместимостью 5-10 мл;
- термостат водяной или водяная баня, поддерживающая температуру (37 ± 1)°C;
- вода дистиллированная;
- цилиндры стеклянные;
- физиологический раствор (0,9% NaCl)

Приготовление рабочего реагента.

Рабочий реагент приготовить смешиванием реагента 1 и реагента 2 в соотношении 1:1 не менее, чем за 30 мин до использования. Стабильность рабочего реагента - не более 5 часов при комнатной температуре (+18-25°C).

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 автоматических или полуавтоматических фотометров (анализаторов). Непосредственно перед использованием нагреть кювету измерительного прибора, рабочий реагент, анализируемые образцы и разведенный калибратор до температуры +37°C.

Компоненты реакционной смеси отобрать в количествах, указанных в таблице.

Таблица

Отмерить, мл	Калибратор	Опытная проба
Разведенный калибратор	0,100	-
Сыворотка/плазма крови, разведенная моча	-	0,100
Рабочий реагент	0,500	0,500

Примечание. Расход рабочего реагента и анализируемых образцов зависят от типа используемого прибора и объема кюветы.

Калибратор тщательно перемешать, поместить в кювету, включить секундомер и точно через 60 секунд замерить оптическую плотность (E_1) при длине волны 505 нм против воздуха (пустая кювета). Замер оптической плотности повторить точно через 60 секунд (E_2), определить значение изменения оптической плотности за минуту (ΔE) по формуле:

$$\Delta E = E_2 - E_1$$

Аналогично определить значение изменения оптической плотности для опытной пробы.

Расчет содержания креатинина .

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

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

где: C - концентрация креатинина, мкмоль/л;

$\Delta E_{\text{оп}}$ - значение изменения оптической плотности анализируемой пробы, ед. опт. плотн.;

$\Delta E_{\text{кал}}$ - значение изменения оптической плотности калибратора, ед. опт. плотн.;

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

Концентрацию креатинина в суточной моче определить по следующей формуле:

$$C = \frac{\Delta E_{\text{оп}} \times 177 \times D \times 50}{\Delta E_{\text{кал}} \times a}$$

где: C - концентрация креатинина в моче, ммоль/сут;

177 - концентрация креатинина в разведенном калибраторе, мкмоль/л,

$\Delta E_{\text{оп}}$ - значение изменения оптической плотности анализируемой пробы, ед. опт. плотн.;

$\Delta E_{\text{кал}}$ - значение изменения оптической плотности калибратора, ед. опт. плотн.;

D - диурез, мл;

a - количество мочи, взятой для анализа, мл;

50 - коэффициент разведения мочи.

Если при определении концентрации креатинина в сыворотке (плазме) крови результат превышает 885 мкмоль/л или в разведенной моче - 44,2 ммоль/сут, следует

4
развести анализируемые пробы физиологическим раствором (0,9% NaCl) в 5 раз и полученные результаты умножить на 5.

Условия хранения и эксплуатации набора.

Набор должен храниться при температуре +18-25°C в течение всего срока годности (12 месяцев).

Реагент 1, реагент 2 и калибратор после вскрытия флакона стабильны в течении всего срока годности при хранении при комнатной температуре (+18-25°C).

Необходимо сразу же плотно закрывать флаконы после использования.

Рабочий реагент, подготовленный к использованию, может храниться не более 5 часов при комнатной температуре.

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

Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную или мутную сыворотку (плазму) крови.

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

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

По вопросам, касающимся качества наборов, следует обращаться в ООО «Ольвекс Диагностикум» по адресу:

193029, Санкт-Петербург, пр. Обуховской обороны, д. 70, а/я № 3.

Телефон: (812) 567-83-02, 567-84-46. Факс: (812) 567-84-29,

Директор по науке
ООО «Ольвекс Диагностикум»

А.Д.Схолль-Энгбертс.

