

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 2009 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Президент «ЗКОлаб»

С. Г. Марданлы

«_____» _____ 2009 г.



**ИНСТРУКЦИЯ
ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
КРЕАТИНИНА В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ
ПО РЕАКЦИИ ЯФФЕ С ДЕПРОТЕИНИЗАЦИЕЙ**

(«Креатинин по Яффе»)

1. Назначение

Набор реагентов предназначен для количественного определения содержания креатинина в сыворотке или плазме крови и моче человека в клинико-диагностических и биохимических лабораториях.

Набор рассчитан на проведение 200 определений при расходе 1,0 мл рабочего раствора пикриновой кислоты на один анализ.

2. Характеристика

2.1. Принцип действия

В щелочной среде креатинин образует с пикриновой кислотой соединения оранжево-красного цвета, интенсивность окраски которых пропорциональна содержанию креатинина и определяется фотометрически при длине волны 520 (500-550) нм.

2.2. Состав набора:

- Реагент 1 - кислота пикриновая, 35 ммоль/л – 1 флакон (100 мл).
- Реагент 2 - натрия гидроокись, 1,6 моль/л – 1 флакон (100 мл).
- Реагент 3 - кислота трихлоруксусная, 1,22 моль/л – 1 флакон (100 мл).
- Калибратор - калибровочный раствор креатинина, 177 мкмоль/л в кислоте соляной, 0,1 моль/л – 1 флакон (20 мл).

3. Аналитические и диагностические характеристики набора

Линейная область определения - в диапазоне от 44 мкмоль/л до 880 мкмоль/л отклонение – не более 6%.

Чувствительность – не более 35 мкмоль/л.

Коэффициент вариации результатов определения – не более 6%.

Качество набора может быть проверено по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

Нормальные значения содержания креатинина:

- в сыворотке (плазме) крови:

мужчин	-	62-124 мкмоль/л;
женщин	-	44-97 мкмоль/л;

- в моче:

мужчин	-	8,8-17,7 ммоль/л;
женщин	-	7,1-15,9 ммоль/л.

Рекомендуется в каждой лаборатории определить диапазон нормальных величин для обследуемого контингента.

4. Меры предосторожности при работе с набором

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Реагенты 1 и 3 и калибратор содержат кислоту. Реагент 2 содержит натрия гидроокись. При работе с ними следует соблюдать осторожность и не допускать попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

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 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 вирусной инфекции.

5. Оборудование, материалы и реагенты

- Фотометрическое оборудование, длина волны 520 (500-550) нм, кювета с длиной оптического пути 1,0 см;
- таймер;
- колбы конические вместимостью 250 мл и 500 мл;
- пробирки вместимостью 10-12 мл;
- центрифуга на 3000 об/мин;
- пипетки позволяющие отбирать объемы жидкости 0,25 мл, 0,5 мл, 0,75 мл и 1,0 мл;
- 0,9 % раствор натрия хлористого (физиологический раствор);
- перчатки резиновые или пластиковые.

6. Анализируемые пробы

Сыворотка или гепаринизированная плазма крови, моча суточная. Сыворотку и плазму можно хранить не более 1 сут. при температуре (2-8) °С, мочу – не более 4 сут. при температуре (2-8) °С. Мочу перед анализом следует разбавить в 50 раз водой дистиллированной.

7. Проведение анализа

7.1. Подготовка к анализу

Приготовление рабочего раствора пикриновой кислоты

В коническую колбу вместимостью 250 мл внести 100 мл реагента 1, добавить 100 мл реагента 2 и перемешать круговыми движениями. При наличии осадка в реагенте 1 его необходимо прогреть при температуре не выше $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ до полного растворения осадка. Реагент 1 должен быть прозрачным.

Раствор готов к использованию через 30 мин после приготовления.

Примечание: В случае приготовления небольшого количества рабочего раствора пикриновой кислоты смешать реагент 1 с реагентом 2 в соотношении 1:1.

Рабочий раствор пикриновой кислоты можно хранить при комнатной температуре (18-25) °С не более 2 сут.

Приготовление рабочего раствора Реагента 3 – рабочий раствор ТХУ

В коническую колбу вместимостью 500 мл внести 100 мл реагента 3, добавить 200 мл воды дистиллированной и перемешать.

Примечание: В случае приготовления небольшого количества рабочего раствора ТХУ смешать реагент 3 с водой дистиллированной в соотношении 1:2.

Рабочий раствор ТХУ можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытом флаконе в течение всего срока годности набора.

Калибратор

Готов к применению. После вскрытия флакона калибратор можно хранить при температуре (2-8) °С в плотно закрытом флаконе не более 6 мес.

7.2. Проведение анализа

Компоненты и анализируемые пробы отмерить в количествах, указанных в таблице.

Таблица

Отмерить, мл	Опытные пробы		Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
	кровь	моча		
Рабочий раствор ТХУ	1,5	0,75	0,75	0,75
Сыворотка (плазма) крови	0,5	-	-	-
Перемешать и центрифугировать опытную пробу с сывороткой (плазмой) крови при комнатной температуре в течение 10 мин при 3000 об/мин				
Надосадочная жидкость	1,0	-	-	-
Моча (разбавленная 1:49)	-	0,25	-	-
Калибратор	-	-	0,25	-
Вода дистиллированная				0,25
Рабочий раствор пикриновой кислоты	1,0	1,0	1,0	1,0

Содержимое пробирок тщательно перемешать путем встряхивания, выдержать при комнатной температуре в течение 20 мин и измерить оптическую плотность опытной (E_{on}) и калибровочной (E_k) проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 520 (500-550) нм в кювете с длиной оптического пути 1,0 см. Окраска растворов стабильна в течение 20 мин.

8. Регистрация результатов

Длина волны: 520 (500 – 550) нм;

Длина оптического пути: 1,0 см;

Температура анализа: (18-25) °С;

Измерение: относительно контрольной (холостой) пробы.

9. Учет результатов реакции

Содержание креатинина в сыворотке (плазме) крови (С, мкмоль/л) определить по формуле:

$$C = \frac{E_{on}}{E_k} \times 177,$$

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

E_k - оптическая плотность калибровочной пробы, ед. опт. плотн.;

177 - содержание креатинина в калибраторе, мкмоль/л.

Содержание креатинина в суточной моче (С, ммоль/сут) определить по формуле:

$$C = \frac{E_{on}}{E_k} \times 177 \times 50 \times V \times 0,001,$$

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

E_k - оптическая плотность калибровочной пробы, ед. опт. плотн.;

177 - содержание креатинина в калибраторе, мкмоль/л;

50 - коэффициент разбавления мочи;

V - объем суточной мочи, л;

0,001 - коэффициент пересчета мкмоль в ммоль.

10. Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при комнатной температуре (18-25) °С в течение всего срока годности.

Срок годности набора - 1 год.

Реагенты 1, 2 и 3 после вскрытия флаконов можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытых флаконах в течение срока годности набора.

Рабочий раствор пикриновой кислоты можно хранить при комнатной температуре не более 2 сут.

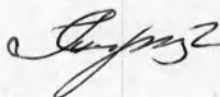
Рабочий раствор ТХУ можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытом флаконе в течение всего срока годности набора.

Калибратор после вскрытия флакона можно хранить при температуре (2-8) °С в плотно закрытом флаконе не более 6 мес.

Если содержание креатинина в исследуемом образце выше 880 мкмоль/л, образец следует развести физиологическим раствором, повторить определение и полученный результат умножить на разведение.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Будённого, д. 1. ЗАО «ЭКОлаб»; тел. (49643) 3-30-93, 3-30-85 - отдел сбыта.

Начальник лаборатории
биохимии ЗАО «ЭКОлаб»



Т. М. Сиренко

СОГЛАСОВАНО:

Зав. кафедрой клинической лабораторной
диагностики ГОУ ДПО РМАПО Росздрава
д.м.н., профессор



В. В. Долгов

9. Учет результатов реакции

Содержание креатинина в сыворотке (плазме) крови (С, мкмоль/л) определить по формуле:

$$C = \frac{E_{on}}{E_k} \times 177,$$

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

E_k - оптическая плотность калибровочной пробы, ед. опт. плотн.;

177 - содержание креатинина в калибраторе, мкмоль/л.

Содержание креатинина в суточной моче (С, ммоль/сут) определить по формуле:

$$C = \frac{E_{on}}{E_k} \times 177 \times 50 \times V \times 0,001,$$

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

E_k - оптическая плотность калибровочной пробы, ед. опт. плотн.;

177 - содержание креатинина в калибраторе, мкмоль/л;

50 - коэффициент разбавления мочи;

V - объем суточной мочи, л;

0,001 - коэффициент пересчета мкмоль в ммоль.

10. Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при комнатной температуре (18-25) °С в течение всего срока годности.

Срок годности набора - 1 год.

Реагенты 1, 2 и 3 после вскрытия флаконов можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытых флаконах в течение срока годности набора.

Рабочий раствор пикриновой кислоты можно хранить при комнатной температуре не более 2 сут.

Рабочий раствор ТХУ можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытом флаконе в течение всего срока годности набора.

Калибратор после вскрытия флакона можно хранить при температуре (2-8) °С в плотно закрытом флаконе не более 6 мес.

Если содержание креатинина в исследуемом образце выше 880 мкмоль/л, образец следует развести физиологическим раствором, повторить определение и полученный результат умножить на разведение.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Будённого, д. 1. ЗАО «ЭКОлаб»; тел. (49643) 3-30-93, 3-30-85 - отдел сбыта.

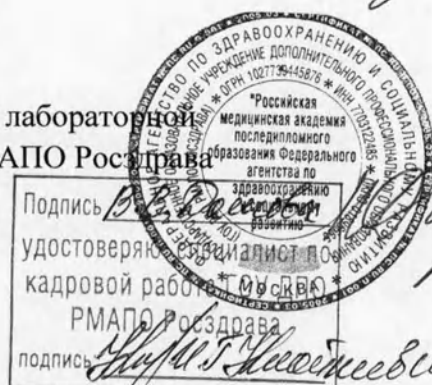
Начальник лаборатории
биохимии ЗАО «ЭКОлаб»



Т. М. Сиренко

СОГЛАСОВАНО:

Зав. кафедрой клинической лабораторной
диагностики ГОУ ДПО РМАПО Росздрава
д.м.н., профессор




В. В. Долгов