

Інструкція
для медичного використання
Набір реактивів для визначення креатиніну в сироватці крові та сечі по
кінцевій точці

Набори реактивів для визначення концентрації аналітів у біологічних рідинах
ТУ У 20.5-20650786-002:2014

Набір призначений для визначення концентрації креатиніну у сироватці крові та сечі в клініко-діагностичних та біохімічних лабораторіях і розрахований на проведення 100 визначень при використанні 3 мл робочого розчину на одне визначення з врахуванням калібрування та контрольних проб.

Принцип методу

При взаємодії креатиніну з пікриновою кислотою в лужному середовищі утворюється комплекс, інтенсивність забарвлення якого пропорційна концентрації креатиніну.

В наборі використовується найбільш специфічний спосіб визначення креатиніну в крові та сечі калориметрично методом Поппера з використанням реакції Яффе в якому осад білків досягається самою пікриновою кислотою.

Склад набору

1	Пікринова кислота	6г
2	Розчин гідроксиду натрію 2,5 моль/л	20 мл
3	Калібрувальний розчин креатиніну 8,8 ммоль/л	10 мл

Обладнання та реагенти

● Фотометричне обладнання, що здатне вимірювати оптичну щільність розчинів на довжині хвилі 505 нм (500-550 нм зелений світлофільтр) з оптичним шляхом 10 мм.

- Баня водяна.
- Центрифуга 3000 об/хв..
- Колба мірна місткістю 100 мл.
- Секундомір.
- Циліндр мірний місткістю 500 мл .
- Піпетки 0,1мл, 1 мл, 5 мл, 10 мл .
- Фізіологічний розчин.
- Вода дистильована.

Приготування робочих розчинів

Розчин пікринової кислоти насичений: вміст флакону із зволоженою пікриновою кислотою кількісно переносять в хімічний стакан і розчиняють гарячою водою (60°C-70°C), доводячи об'єм до 300 мл (можна підігрівати суміш на водяній бані). Після повного розчинення кристалів розчин охолодити до кімнатної температури, профільтрувати.

Розчин гідроксиду натрію готовий до роботи.

Робочий калібрувальний розчин креатиніну: відібрати піпеткою рівно 1 мл калібрувального розчину креатиніну, перенести в мірну колбу на 100 мл, долити

дистильованою водою до мітки, перемішати. Використовувати для дослідження сироватки крові на протязі тільки одного дня.

Побудова калібрувального графіка для визначення концентрації креатиніну в сироватці крові

№ пробірки	1	2	3	4	5	Контрольна проба
Робочий калібрувальний розчин креатиніну (мл)	0,4	0,8	1,6	2,4	3,2	-
Вміст креатиніну в пробі (мг)	0,004	0,008	0,016	0,024	0,032	-
Концентрація креатиніну в сироватці (мкмоль/л)	35,36	70,72	141,4	212,2	289,9	-
Розчин пікринової кислоти насичений (мл)	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	1,5
Розчин гідроксиду натрію (мл)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1
Дистильована вода (мл)	6,4	6,0	5,2	4,4	3,6	3,4

Вимірюють оптичну щільність фотометром при довжині хвилі 505 нм (500-560 нм зелений світлофільтр), довжині оптичного шляху 10 мм проти контрольної проби.

Будують калібрувальний графік залежності оптичної щільності від кількості креатиніну в пробі (мг, мкмоль/л).

Визначення креатиніну в сироватці крові

До 3 мл розчину пікринової кислоти насиченого додають 1 мл сироватки крові і через 5 хв поміщають в киплячу водяну баню на 15 -20 секунд. Центрифугують при 3000 об/хв. на протязі 10 хв.

До 2 мл надосадової рідини додають 0,1 мл розчину гідроксиду натрію (якщо розчин помутнів, повторюють центрифугування), перемішують, доводять до 5 мл дистильованою водою і інкубують 10 хв. при кімнатній температурі (+15°C+25°C).

Вимірюють оптичну щільність фотометром при довжині хвилі 500-560 нм (зелений світлофільтр), довжині оптичного шляху 10 мм проти контрольної проби. Контрольна проба: до 1,5 мл розчину пікринової кислоти насиченого додати 0,1 мл розчину гідроксиду натрію і довести дистильованою водою до об'єму 5 мл.

Концентрацію креатиніну визначають по калібрувальному графіку.

Визначення креатиніну в сечі

В сечі концентрацію креатиніну розраховують по калібрувальній пробі, при цьому використовують калібрувальний розчин креатиніну 8,8 ммоль/л.

В мірній колбі на 100 мл змішують 0,5 мл дослідної сечі з 3 мл розчину пікринової кислоти насиченого. Суміш ретельно струшують і додають 0,2 мл розчину гідроксиду натрію. Інкубують при кімнатній температурі (+15°C+25°C) 10 хв. Доводять до об'єму 100 мл дистильованою водою і вимірюють оптичну щільність на фотометрі з довжиною оптичного шляху 1 см при довжині хвилі 500-560 нм (зелений світлофільтр) проти контрольної проби.

Контрольна проба: до 3 мл розчину пікринової кислоти насиченого додати 0,2 мл розчину гідроксиду натрію і довести дистильованою водою до об'єму 100 мл.

Калібрувальна проба: до 3 мл розчину пікринової кислоти насиченого додати 0,5 мл калібрувального розчину креатиніну 8,8 ммоль/л і 0,2 мл розчину гідроксиду натрію. Далі проби обробляють як дослідні.

Концентрацію креатиніну розраховують по формулі:

$$C = \frac{E_{\text{досл}}}{E_{\text{калібр}}} \times 8,8 \text{ ммоль/л}$$

Розрахунок кліренсу креатиніну розраховують по формулі:

$$C = \frac{E_{\text{досл}}}{E_{\text{калібр}}} \times \frac{A}{B} \times 8,8 \text{ ммоль/л}$$

де С – концентрація креатиніну, ммоль/л;

$E_{\text{досл}}$ – оптичної щільності дослідної проби, од. опт. щільності;

$E_{\text{калібр}}$ – оптичної щільності калібрувальної проби, од. опт. щільності;

А – добова кількість сечі;

В – кількість сечі відібраної для аналізу;

8,8 ммоль/л – концентрація креатиніну в калібраторі.

Запобіжні заходи

Набір призначений для in vitro діагностики професійно підготовленим лаборантом.

Роботи потрібно виконувати в захисних рукавичках, оскільки кров людини слід розглядати як потенційно інфіковану.

Слід виконувати правила безпеки при роботі з їдкими та отруйними речовинами.

Нормальні значення

Сироватка

Чоловіки: 53-106 мкмоль/л

Жінки: 44-97 мкмоль/л

Сеча

Чоловіки: 8,8- 17,6 ммоль/добу

Жінки: 7,4 – 15 ммоль/добу.

Примітки

1. Вимірювання потрібно проводити не пізніше 20 хв після додавання розчину гідроксиду натрію.

2. Якщо рівень креатиніну в сироватці перевищує 360 мкмоль/л, розведіть зразок в 2-3 рази фізіологічним розчином і повторіть вимірювання, врахувавши розведення при розрахунках.

3. В якості консервантів для сечі використовують тимол і толуол.

4. Антикоагулянти, крім гепарину, спотворюють показники концентрації креатиніну.

5. Білок не заважає визначенню креатиніну в сечі до концентрації 15 г/л.
6. При концентрації глюкози вище 15 ммоль/л результати визначення креатиніну не надійні.

Умови зберігання

Реактиви з яких складається набір зберігати при температурі від +2°C до +8°C.

Література

1. Loken F., Skand J.: Clin.Lab. Invest. 12, 381, 1954.
2. Камышников В.С. «Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике», т.1, стр.295-299, Минск, «Беларусь», 2000.
3. Медицинские лабораторные технологии. Справочник/ Под ред. А.И. Карпищенко, т.2, стр. 99-101, Санкт-Петербург, «Интермедика», 2002.

Виробник: ТОВ “Генезіс”, Україна.

Адреса: 27503, м.Світловодськ, Кіровоградська обл., вул.Єгорова, 41.