

«ПОГОДЖЕНО»

Перший заступник голови Державної
служби України з лікарських засобів

09 листопада 2012 р.

І.Б. Демченко

Код за НК 024:2023 – **53251**

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар клінічної лікарні „Феофанія”
Державного управління справами

30 жовтня 2012 р.

І.П. Семенів

ТУ У 24.4-24607793-018-2003

ІНСТРУКЦІЯ ПО ВИЗНАЧЕННЮ КРЕАТИНІНУ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ТА СЕЧІ**ПРИЗНАЧЕННЯ****IVD**

Набір призначений для визначення концентрації креатиніну у сироватці крові та сечі людини в клініко-діагностичних та біохімічних лабораторіях, науково-дослідницькій практиці.

Набір розрахований на (з урахуванням холостих та калібрувальних проб) на відповідну кількість визначень (Див. **Примітку 3**).

REF	мікро	напівмікро	макро	REF	мікро	напівмікро	макро
<u>HP014.01</u>	400	200	100	<u>HP014.07</u>	200	100	50
<u>HP014.08</u>	800	400	200				

Лінійність зберігається до 100 мг/л (885 мкмоль/л) креатиніну в аналізованому розчині.

Коефіцієнт варіації визначення - не більше 6 %.

Чутливість ⁸ на 0,001 од. оптичної щільності – не більше 0,8 мкмоль/л (505 нм).

Зберігання набору - при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С.

Гарантійний термін придатності набору - 12 місяців від дня виготовлення.

Набір призначений для застосування *in vitro* тільки кваліфікованим лабораторним персоналом.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Пікринова кислота у лужному середовищі утворює з креатиніном продукт жовто-червоного кольору (похідне 2,4,6-три-нітроциклогексадієну). Інтенсивність забарвлення дослідного розчину прямопропорційна концентрації креатиніну у пробі. У сироватці крові креатинін досліджується після депротейнування розчином трихлороцтової кислоти, у сечі - після розведення. Визначенню креатиніну у сироватці крові заважають речовини з активною метиленовою групою, кетони та відновники (глюкоза і т.п.).

СКЛАД НАБОРУ

- Розчин пікринової кислоти ($0,040 \pm 0,002$) моль/л
HP014.01 - 1 флакон з (100 ± 4) мл;
HP014.07 - 1 флакон з (50 ± 2) мл;
HP014.08 - 2 флакони по (100 ± 4) мл;
- Розчин трихлороцтової кислоти ($1,220 \pm 0,061$) моль/л
HP014.01 - 1 флакон з (100 ± 4) мл;
HP014.07 - 1 флакон з (50 ± 2) мл;
HP014.08 - 2 флакони по (100 ± 4) мл;
- Гідроокис натрію: розчин 2,3 Н
HP014.01 - 1 флакон з (50 ± 2) мл
HP014.07 - 1 флакон з (25 ± 1) мл;
HP014.08 - 2 флакони по (50 ± 2) мл;
- Ліофілізований креатинін для приготування 8 мл калібрувального розчину ($442,5 \pm 22,0$) мкмоль/л або 8 мл готового розчину креатиніну ($442,5 \pm 22,0$) мкмоль/л.
HP014.01, HP014.07 - 1 флакон;
HP014.08 - 2 флакони.

ОБЛАДНАННЯ

- Фотометричне обладнання, яке здатне вимірювати оптичну щільність розчинів при довжині хвилі **505 (490-520)** нм в діапазоні (0-1) од. опт. щільності та довжині оптичного шляху 10 мм або 5 мм.
- Колби місткістю 50 мл або 100 мл, пробірки місткістю 20 мл (згідно з чинними нормативними документами).
- Піпетки місткістю 5 мл (ДСТУ EN ISO 835:2018).
- Центрифуга для пробірок (від 2000 об/хв до 5000 об/хв).

ЗРАЗОК

Сироватка.

Сечу необхідно розвести в 100 разів дистильованою водою.

Креатинін стійкий у зразках 24 години при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С.

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

1. **Розчин креатиніну.** Якщо флакон містить ліофілізований (сухий) креатинін, то до нього вносять піпеткою рівно 8 мл дистильованої води, одержують розчин із концентрацією креатиніну 442,5 мкмоль/л (50 мг/л). Якщо у флаконі розчин, то він готовий до використання.
2. **Розчин гідроокису натрію.** Вміст 1 флакона з гідроокисом натрію переносять в мірну колбу (для HP014.01 та HP014.08 - на 100 мл, для HP014.07 - на 50 мл) доливають до мітки дистильованої води і ретельно перемішують. Одержують розчин з вмістом гідроокису натрію біля 4,6% (1,15 N). Розчин стійкий при збереженні в поліетиленовій ємності, захищеній від вуглекислого газу повітря.
3. **Розчин пікринової кислоти.** Розчин готовий до використання.
4. **Розчин трихлороцтової кислоти (ТХО).** Розчин готовий до використання.
5. **Розчини 1-4** придатні для роботи до закінчення терміну, зазначеного на упаковці, за умови зберігання при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

1. Аналіз сироватки проводять відповідно до таблиці 1.

Таблиця 1

Відміряємий розчин, мл	Дослідна проба			Калібрувальна проба			Холоста проба		
	Мікро	Напів-мікро	Макро	Мікро	Напів-мікро	Макро	Мікро	Напів-мікро	Макро
Сироватка	0,25	0,5	1,0	--	--	--	--	--	--
Дистильована вода	0,50	1,0	2,0	0,50	1,0	2,0	0,75	1,5	1,5
Калібрувальний розчин	--	--	--	0,25	0,5	1,0	--	--	--
Розчин ТХО кислоти	0,25	0,5	1,0	0,25	0,5	1,0	0,25	0,5	1,0
Перемішати, центрифугувати 5 хв при 3000 об/хв (<u>Якщо при змішуванні Калібрувальної проби з Розчином ТХО кислоти осад не з'являється, то немає потреби цей розчин центрифугувати</u>).									
Надосадова рідина	0,50	1,0	2,0	0,50	1,0	2,0	0,50	1,0	2,0
Розчин гідроокису натрію	0,25	0,5	1,0	0,25	0,5	1,0	0,25	0,5	1,0
Розчин пікринової кислоти	0,25	0,5	1,0	0,25	0,5	1,0	0,25	0,5	1,0
Перемішати, витримати 20 хв при кімнатній температурі, фотометрувати проти холостої проби. Забарвлення стабільне протягом (20 ± 2) хв. Фотометрування - див. розділ «Обладнання».									

2. Аналіз сечі проводять відповідно до таблиці 2.

Таблиця 2

Відміряємий розчин, мл	Дослідна проба			Калібрувальна проба			Холоста проба		
	Мікро	Напів-мікро	Макро	Мікро	Напів-мікро	Макро	Мікро	Напів-мікро	Макро
Дистильована вода	-	-	-	0,50	1,0	2,0	-	-	-
Калібрувальний розчин	-	-	-	0,25	0,5	1,0	-	-	-
Розчин ТХО кислоти	-	-	-	0,25	0,5	1,0	-	-	-
Перемішати, центрифугувати 5 хв при 3000 об/хв. (<u>Якщо при змішуванні Калібрувальної проби з Розчином ТХО кислоти осад не з'являється, то немає потреби цей розчин центрифугувати</u>).									
Перед аналізом розвести сечу в 100 разів (до 1 мл сечі додати 99 мл дистильованої води).									
Надосадова рідина	-	-	-	0,50	1,0	2,0	-	-	-
Розведена сеча	0,20	0,50	1,0	-	-	-	-	-	-
Розчин ТХО кислоти	0,10	0,25	0,5	-	-	-	0,10	0,25	0,5
Дистильована вода	0,10	0,25	0,5	-	-	-	0,30	0,75	1,5
Розчин гідроокису натрію	0,20	0,50	1,0	0,25	0,5	1,0	0,20	0,50	1,0
Розчин пікринової кислоти	0,20	0,50	1,0	0,25	0,5	1,0	0,20	0,50	1,0
Перемішати, витримати 20 хв при кімнатній температурі, фотометрувати проти холостої проби. Забарвлення стабільне протягом (20 ± 2) хв. Фотометрування - див. розділ «Обладнання». Отриманий результат помножити на коефіцієнт розведення (50).									

3. **Розрахунок** концентрації креатиніну у пробі проводять за формулою (1):

$$C = \frac{E_{\text{досл.}}}{E_{\text{кал}}} \times 5,0(442,5), \text{ де} \quad (1)$$

C - концентрація креатиніну в пробі, мг% (мкмоль/л);

5,0 (442,5) - калібрувальна концентрація креатиніну, мг% (мкмоль/л);

E_{досл.} - оптична щільність дослідної проби, од. опт. щільності;

E_{кал.} - оптична щільність калібрувальної проби, од. опт. щільності.

4. **Кількість креатиніну у добовій сечі** визначають за формулою (2):

$$KK = \frac{C \times A}{B \times 100}, \text{ де} \quad (2)$$

KK - кількість креатиніну у добовій сечі, мг;

C - концентрація креатиніну у сечі, мг%;

A - добова кількість сечі, мл;

B - кількість сечі, взятої для аналізу, мл.

НОРМАЛЬНІ ЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ КРЕАТИНІНУ У СИРОВАТЦІ ³

Підлітки - (44-88) мкмоль/л;

18-60 років Ч: - (80-115) мкмоль/л;

Ж: - (53-97) мкмоль/л;

60-90 років Ч: - (71-115) мкмоль/л;

Ж: - (53-106) мкмоль/л.

НОРМАЛЬНІ ЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ КРЕАТИНІНУ В СЕЧІ ³

Підлітки - (8 - 30) мг/кг/добу (71 -265) мкмоль/кг/добу;

Дорослі Ч: - (14 - 26) мг/кг/добу (124 - 230) мкмоль/кг/добу;

Ж: - (11 - 20) мг/кг/добу (97 - 177) мкмоль/кг/добу;

Добова сеча здорової людини - (4,4 - 17,7) ммоль/добу.

Дані величини орієнтовні, відповідно до правил GLP (Належної Лабораторної Практики) рекомендується визначення власних нормальних величин в кожній лабораторії, характерних для обстежуваного контингенту.

ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Креатинін - кінцевий продукт розпаду креатину (фосфоркреатину). Кількість креатиніну, що виробляється щодня, залежить від м'язової маси. Креатинін вільно фільтрується через клубочковий апарат нирок (невелика кількість реабсорбується і потім виділяється нирковими канальцями). Визначення креатиніну використовується виключно для оцінки функції нирок (порушенні перфузії в нирках, зниження кількості функціонуючих нефронів) і для моніторингу ниркового діалізу ^{4,6}.

При зниженні швидкості клубочкової фільтрації на кожних 50% рівень креатиніну в сироватці подвоюється.

При хронічних захворюваннях нирок рівень креатиніну в плазмі може бути чутливішим до зміни функції клубочків, ніж кліренс креатиніну, який може бути фактично вище за дійсні значення.

Креатинін не є чутливим показником захворювання нирок в ранній стадії.

На рівень креатиніну в плазмі у меншій мірі, ніж на сечовину, впливає характер їжі.

Клінічний діагноз повинен встановлюватися на основі інтеграції клінічних і лабораторних даних.

ІНТЕРФЕРЕНЦІЯ

1. Гемоглобін до 0,1 г/л та білірубін до 100 мг/л не впливають на результат визначення.
2. Ліпемія (тригліцериди 2 г/л), гемоглобін (понад 0,1 г/л), висока концентрація відновлюючих речовин і деякі ліки (нефротоксичні препарати, ацетооцтова кислота, ацетогексамід, ацетон, аскорбінова кислота, цефаклор, цефамандол, цефазолін, цефоранід, цефокситин, флуцитозин, лідокаїн, фруктоза, глюкоза, ібупрофен, леводопа, метилдофа, нітрофурантоїн

- і піперацилін, пролін, піруват, сечова кислота, N-Ацетилцистеїн, білірубін, цефалотин, діпірон) можуть вплинути на хід реакції⁵.
3. Ко-тримоксазол [сульфаметоксазол + Триметоприм] може підвищувати на 10% результати реакції Яффе з пікриновою кислотою при кількісному визначенні креатиніну⁷.
 4. Жовтяниця (білірубін понад 100 мг/л) викликає помилкове зниження показників креатиніну.
 5. Ліпемія, гемоліз (гемоглобін понад 0,1 г/л) і кетоацидоз викликають помилкове підвищення показників креатиніну.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для контролю ходу реакції та процедури вимірювання рекомендується використовувати контрольні сироватки зі значеннями концентрації, визначеними даним методом. Наприклад: "ФілоНорм" або „ФілоПат" (Україна).

Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте обладнання, реактиви та можливі технічні проблеми.

Кожна лабораторія повинна встановити власну внутрішню систему контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

ЗАСТЕРЕЖНІ ЗАХОДИ

1. При роботі використовувати гумові рукавички, заборонено їсти, пити, курити.
2. Гідроокис натрію, Пікринова кислота, Трихлороцтова кислота - їдкі речовини.

УТИЛІЗАЦІЯ

Всі зразки для аналізу вважають за матеріал, який може бути інфікований, і разом з можливими залишками реактивів підлягає знищенню відповідно до затверджених внутрішньолікарняних правил.

Паперову упаковку здайте в макулатуру, виполоскану тару - в сортоване сміття.

ПРИМІТКИ

1. Вимірювання слід проводити не пізніше, ніж через **20 хв** після додавання розчину пікринової кислоти.
2. Якщо у розчинах з'явився осад, їх необхідно підігріти в теплій воді до повного розчинення.
3. **Розраховано при витраті розчинів реагентів 0,75 мл (мікро-), 1,5 мл (напівмікро-), 3,0 мл (макро-).**

Витрату реактивів можна масштабувати, відповідно до аспіраційного об'єму кювети аналізатора, виходячи з постійного співвідношення:

Розчин ТХО кислоти : Аналізуємий розчин = 1 : 1

Надосадова рідина : Розчин гідроокису натрію : Розчин пікринової кислоти = 2 : 1 : 1

ЛІТЕРАТУРА

1. Löken, F.: Scand. J. Clin. Lab. Invest. 12, 381 (1954).
2. van Pilsen, J.F., Boris, M.: Clin. Chem. 3, 90 (1957).
3. Энциклопедия клинических лабораторных тестов под ред. Н.У.Тица, перевод с англ. под ред. Меньшикова, стр. 277-278, Москва, "Лабинформ", 1997.
4. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1999.
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
6. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
7. Інструкція по застосуванню Бісептол® (Biseptol®) Pabianice Pharmaceutical Works Polfa (Польща)
8. IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997).



ТОВ НВП «Філісит-Діагностика»,
Україна, 49051 м. Дніпро, вул. Каштанова, 32
Тел./факс: (056) 747-47-76, 747-45-34
Тел.: (093) 573-75-35, (067) 535-15-73, (095) 168-36-54
E-mail: filicit@ukr.net <http://www.felicit.com.ua>