



شرکت افلاک طب هگمتانه

کیت تشخیص کمی کراتینین در سرم و ادرار با روش های دستی و دستگاهی

اطلاعات سفارش:

شماره سفارش:	1.CRE01.99.500
حجم محلول:	R1: 5 x 80 mL R2: 1 x 100 mL

مقدمه (1):

کراتینین محصول دهیدراته شدن غیر آنزیمی کراتین در عضلات اسکلتی است. همانند اوره، مقدار کراتینین تولید شده و دفع شده توسط کلیه متناسب با توده عضلانی است و معمولاً در مردان بیشتر از زنان است. تولید روزانه کراتینین نسبتاً ثابت باقی می ماند، به استثنای آسیب های شدید به کلیه و یا بیماری های دژنراتیو که باعث آسیب شدید به عضلات می شود همچنین در استفاده از برخی داروها، بارداری، غذای حاوی پروتئین بالا. سطح کراتینین خون و ادرار به فیلتراسیون گلوبولار (GFR) بستگی دارد، بنابراین کلیرانس کراتینین شاخص عالی عملکرد کلیه است.

اساس آزمایش (2):

روش ژافه تغییر یافته بدون حذف پروتئین می باشد. در این روش کراتینین در محیط قلیایی با اسید پیکریک واکنش داده و 2،4،6-تری نیتروسیکلوهگزادینات زرد-قرمز تشکیل می دهد. شدت رنگ تولید شده متناسب با غلظت کراتینین می باشد. انجام آزمایش به روش کینتیک بوده و باعث کاهش تاثیر عوامل مداخله گر در واکنش می شود.

ریجننت ها:

محتویات و مقادیر: (بر اساس محلول آماده شده برای کار)

معرف 1:

Sodium hydroxide	312.5	mmol/L
Disodium phosphate	12.5	mmol/L

معرف 2: (محلول رنگی)

Picric acid	6.5	mmol/L
SDS	0.75	mmol/L

آماده سازی:

محلول ها به صورت آماده برای مصرف می باشد.

شرایط نگهداری و پایداری محلول ها:

معرف ها تا تاریخ انقضای مندرج روی کیت، در صورتی که در دمای اتاق نگهداری شوند و از آلودگی جلوگیری شود، پایدار هستند. معرف ها را منجمد نکنید و از نور محافظت کنید.

نمونه ها (3, 4):

نمونه سرم عاری از همولیز، پلاسماهی هیپارین یا EDTA، نمونه ادرار رندوم و 24 ساعته.

نمونه	پایداری		
	فریزر (روز)	یخچال (روز)	اتاق (روز)
سرم	90	7	-
ادرار	30	30	30

جداسازی نمونه های سرم و پلاسما تا 120 دقیقه پس از نمونه گیری انجام شود.

مواد نگهدارنده نمونه ادرار 24 ساعته:

جهت جمع آوری نمونه ادرار 24 ساعته نیازی به افزودن مواد نگهدارنده نیست. در صورتیکه اندازه گیری کراتینین نمونه ادرار 24 ساعته طی 4 ساعت پس از اتمام جمع آوری نمونه انجام نشود از مواد نگهدارنده استفاده می شود.

50% Acetic Acid 25mL per 24hr, Boric Acid 10gr per 24hr, Diazolidinyl Urea (250 g/L) 5 mL per 24hr, 6M Hydrochloric Acid 30 mL per 24hr, 6M Nitric Acid 15 mL per 24hr, Thymol (10% in isopropanol) 10 mL per 24hr, Sodium Carbonate (crystals) 5 gr per 24 hr.

قبل از انجام آزمایش یک حجم نمونه ادرار را با 19 حجم آب مقطر رقیق نموده و نتیجه را

در عدد 20 ضرب نمایید.

روش انجام آزمایش:

طول موج:	505 nm (λ main) - 700 nm (λ sub)
دما:	37 °C
قطر کووت:	1 cm
نسبت نمونه به معرف:	12.5 به 1

دستگاه را در مقابل بلانک آب مقطر صفر کنید.

روش دو محلوله:

نمونه	استاندارد	بلانک	
-	-	100	آب مقطر (μL)
-	100	-	استاندارد (μL)
100	-	-	نمونه (μL)
1000	1000	1000	محلول معرف شماره 1 (μL)
پس از مخلوط کردن 5 دقیقه صبر کنید و سپس معرف شماره 2 را اضافه کنید.			
250	250	250	محلول معرف شماره 2 (μL)
پس از مخلوط کردن، 20 ثانیه صبر کنید، جذب نوری را تعیین نموده، اختلاف نوری را پس از 80 ثانیه به دست آورید.			

محاسبات:

$$\Delta A: (A \lambda_{\text{main}} - A \lambda_{\text{sub}})$$

در سرم و پلاسما:

$$\frac{\text{abs Sample } (\Delta\text{Abs}/\text{min})}{\text{abs Calibrator } (\Delta\text{Abs}/\text{min})} \times \text{Conc. Std/Cal (mg/dL)} = \text{Conc. Creatinine (mg/dL)}$$

در ادرار 24 ساعته

$$\text{Urine 24hr (mg/24 hr)} = \frac{[(\text{Urine Creatinine (mg/dL)} \times \text{Urine Volume (ml)}) / 100] \times 20}{\text{Urine 24hr (mg/kg/24hr)} = \frac{[(\text{Urine Volume (ml)} \times \text{Creatinine Conc (mg/dl)}) / \text{Body Weight (kg)}] \times 100 \times 20}$$

در ادرار رندوم:

$$\frac{\text{abs Sample } (\Delta\text{Abs}/\text{min})}{\text{abs Calibrator } (\Delta\text{Abs}/\text{min})} \times \text{Conc. Std/Cal (mg/dL)} = \text{Conc. Creatinine (mg/dL)} \times 20$$

ضریب تبدیل واحد:

$$\text{Creatinine [mg/dL]} \times 88.4 = \text{Creatinine } [\mu\text{mol/L}]$$

دامنه مرجع (3, 4):

واحد	دامنه مرجع	سن	نمونه	
mg/dL	1.0-0.3 0.4-0.2 0.3-0.7 1.0-0.5		نوزاد 1-4روزه	
			بیشتر از 4روزه کودکان	
			نوجوانان	
			بالغ	
			18-60 سال مردان	
			زنان	
mg/dL	1.3-0.9 1.1-0.6		90-60 سال مردان	
			زنان	
			بیشتر از 90 سال مردان	
			زنان	
			1.7-1.0 1.3-0.6	مردان
			زنان	
mg/dL	392-24 328-22		رندوم مردان	
			40 سال < 40 سال ≥ زنان	
mg/24hr	2000-800 1800-600		24hr مردان	
			زنان	
mg/kg/24hr	20-8 22-8 30-8		24hr نوزاد	
			کودکان نوجوانان	
	26-14 20-11		بالغین مردان	
			زنان	

هر آزمایشگاه محدوده مرجع خود را تعیین نماید.

کنترل کیفی:

جهت انجام کنترل کیفی و کالیبراسیون می توانید از کنترل ها و کالیبراتورهای بیوشیمی تجاری استفاده کنید.

ویژگی ها و کارایی کیت:

محدوده اندازه گیری (5, 6):

نمونه سرم:

Measuring Range: 0.37 – 20 mg/dL
Limit Of Blank (LOB): 0.051 mg/dL
Limit Of Detection (LOD): 0.0761 mg/dL
Limit Of Quantification (LOQ): 0.37 mg/dL

غلظت های بالاتر از 20 mg/dL را به نسبت 1 قسمت از نمونه + 1 قسمت از سرم فیزیولوژی رقیق نموده (1/2) و جواب آزمایش در عدد 2 ضرب شود.

نمونه ادرار:

با احتساب رقت 1 به 20

Measuring Range: 2.5 – 400 mg/dL
Limit Of Blank (LOB): 1.02 mg/dL
Limit Of Detection (LOD): 1.522 mg/dL
Limit Of Quantification (LOQ): 2.5 mg/dL

دقت (7):

	n	Mean (mg/dL)	Within Run CV%	Total CV%
Low	80	1.4	4.1	3.8
Normal	80	4.2	1.5	1.6
High	80	8.7	0.8	1.1

آزمایشها با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر در دمای 37 °C انجام شده است.

مقایسه روش ها (8):

در مقایسه انجام شده جهت ارزیابی کیت کراتینین شرکت افلاک طب هگمتانه (Y) با کیت تجاری کراتینین (X) روش ژافه، بر روی 40 نمونه بیمار با محدوده غلظت 0.38 – 19.8 mg/dL نتایج زیر به دست آمده است:

Correlation Coefficient: (r)=0.9999
Linear regression: Y= 1.0087 (x) – 0.0039 mg/dL











عوامل مداخله گر (9):

Additive		Serum with additive	
Name	Final concentration	Creatinine (mg/dL)	Interference %
TG	None	2.10	
	500 (mg/dL)	2.12	0.95
	600	2.12	0.95
	800	2.15	2.38
	1000	2.21	5.24
	2000	2.27	8.10
Hb	None	2.10	
	200 (g/L)	2.15	2.38
	400	2.25	7.14
	600	2.29	9.05
Bilirubin	None	2.10	
	5 (mg/dL)	2.16	2.86
	10	2.19	1.39
	15	2.22	5.71
	20	2.26	7.62
	25	2.31	10.00
Ascorbic acid	None	2.10	
	10 (mg/dL)	2.17	3.33
	20	2.28	8.57

مراجع:

- Allston, C.A, Non-protein nitrogenous compounds and renal function. Clinical chemistry: Concepts and application, Anderson, S.C, Cockayne, S. (W.B. saunders ads. Philadelphia USA), (1993), 369.
- Vasiliades, j., Reaction of alkaline picrate with Creatinine. I. kinetics and mechanism of formation of the mono Creatinine picrate acid complex, clin. Chem., (1976), 22, 1664.
- https://www.mayocliniclabs.com
- Tietz, N.W., Clinical guide to laboratory tests, 4th Ed. (W.B. Saunders eds. Philadelphia USA), (2006), 316.
- Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline. CLSI EP17A (2004).
- Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures, 2nd Edition, CLSI EP06-A (2003).
- Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; approved guideline—. Evaluation, CLSI EP5-A2 (2004).
- Method comparison and bias estimation using patient samples; Approved guideline. CLSI EP9-A2, (2002).
- Interference Testing in Clinical Chemistry; approved guideline. CLSI EP07-A2, 2005.

علامت:

	Temperature limitation		Catalogue number
	Manufacture address		Expiration date
	Batch code		Date of manufacture
	In vitro diagnostic medical device		Reagent 1
	Consult instruction for use		Reagent 2

--	--