

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Σε αλκαλικό περιβάλλον η κρεατινίνη αντιδρά με πικρικά ανιόντα προς σχηματισμό έγχρωμης ένωσης κιτρινοπορτοκαλόχρου χρώματος. Η αύξηση της απορρόφησης στα 490 nm είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της κρεατινίνης στο δείγμα.

Κρεατινίνη + Πικρικό οξύ OH^- Έγχρωμο προϊόν

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ

Ορός mg/dl μmoles/lit

Ανδρες : 0,6 - 1,5 53 - 133

Γυναίκες : 0,5 - 1,3 44 - 115

Ούρα : 1000 - 1500 mg / 24h
8,84 - 13.3 mmoles / 24h

Κάθαρση κρεατινίνης: 70 - 160 ml / min

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

R1. Αλκαλικό διάλυμα

R2. Διάλυμα πικρικού οξέος

R4. Πρότυπο διάλυμα κρεατινίνης 2 mg/dl
(όπου απαιτείται)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Αναμείξτε ίσους όγκους των διαλυμάτων R1 και R2, ανάλογα με τις ανάγκες της ημέρας.

Θερμοστατείστε το διάλυμα εργασίας στην θερμοκρασία που επιλέξατε για να εκτελέσετε την μέθοδο (25-37 °C).

ΤΕΛΙΚΕΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ

NaOH 0.4 N, Πικρικό οξύ 8 mM.

ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Αναγράφεται στο set, σε θερμοκρασία 15-30°C. Σταθερότητα διαλύματος εργασίας 6 ώρες σε θερμοκρασία 15-30 °C.

ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΜΕΝΟ ΔΕΙΓΜΑ

Ορός ή ούρα.

Σταθερότητα κρεατινίνης στο δείγμα, 24 ώρες σε θερμοκρασία 2-10 °C.

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΟΥΡΩΝ

Αραίωση 1 ml ούρα + 99 ml H₂O (1:100)

ΜΕΘΟΔΟΣ (Όλοι οι όγκοι δηλώνουν ml)

Μήκος κύματος : 490 nm (490-510nm)
Θερμοκρασία : Σταθερή (25 °C - 37 °C)
Κυψελίδα : 1 cm
Μηδενισμός φωτομέτρου : Έναντι αέρα
όπου Δ:δείγμα, S: πρότυπο

Προσθέστε στην κυψελίδα Δ ή S

Διάλυμα εργασίας

(θερμοστατούμενο σε υδατόλουτρο 37°C) 1.0

Περιμένετε μέχρι να σταθεροποιηθεί η απορρόφηση (αυτό επιτυγχάνεται όταν το διάλυμα αποκτήσει την θερμοκρασία του χώρου)

Προσθέστε, χωρίς να βγάλετε την κυψελίδα από το φωτόμετρο (εάν αυτό είναι δυνατόν) :

Δείγμα : ορός ή standard ή αραιωμένα ούρα (1:100) 0.1

Πιέστε το χρονόμετρο και ταυτόχρονα Αναδεύστε το περιεχόμενο της κυψελίδας με το ρύγχος της αυτόματης πιπέτας.

Ακριβώς μετά από 30 sec διαβάστε την ένδειξη του φωτομέτρου (A₃₀).

Επαναλάβετε το ίδιο ΑΚΡΙΒΩΣ μετά από 90 sec (A₉₀).

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ

A_s ή $A_{\Delta} = A_{90} - A_{30}$

Ορός:

Κρεατινίνη (mg/dl) = $A_{\Delta}/A_s \times 2$

Κρεατινίνη (μmoles/lit) = $A_{\Delta}/A_s \times 117$

Ούρα:

Κρεατινίνη (mg/24h) = $A_{\Delta}/A_s \times 2 \times$ όγκος ούρων 24h (ml)

Κρεατινίνη (mmoles/24h) = $A_{\Delta}/A_s \times 17.7 \times$ όγκος ούρων 24h (lit)

Κρεατινίνη ούρων 24h(mg) = Ενδ.αναλ. x ml ούρων 24h

Κάθαρση κρεατινίνης (ml/min) = $\frac{\text{Κρεατινίνη ούρων 24h(mg)}}{\text{Κρεατινίνη ορού (mg/dl)} \times 14,4}$

ΓΡΑΜΜΙΚΟΤΗΤΑ

Ορός : Μέχρι 6 mg/dl (530 μmoles/lit).

Ούρα : Μέχρι 300 mg/dl (26.5 mmoles/lit).

CALIBRATOR/ΟΡΟΙ ΕΛΕΓΧΟΥ (Δεν παρέχονται με το kit)

Biomultical, Bionorm, Biopath

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

- Η αντίδραση είναι εξαιρετικά ευαίσθητη στον παράγοντα θερμοκρασία. Η παράλληλη όμως χρησιμοποίηση standard, εξουδετερώνει την ανάγκη να υπάρχει ορισμένη θερμοκρασία προσδιορισμού (25-37 C). Θα πρέπει όμως η θερμοκρασία να παραμένει σταθερή ΣΕ ΟΛΗ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ του προσδιορισμού. Εάν δεν διαθέτετε θερμοστατούμενο φωτόμετρο αποφύγετε την χρησιμοποίηση αυτής της μεθόδου. Χρησιμοποιήστε την μέθοδο με αποπρωτείνισμό.
- Εάν το διάλυμα εργασίας φυλάσσεται στο ψυγείο, θα πρέπει να αποκτήσει θερμοκρασία περιβάλλοντος πριν χρησιμοποιηθεί.
- Ανάλογα με την περιεκτικότητα σε κρεατινίνη μπορεί να απαιτείται μεγαλύτερη ή μικρότερη αραιώση των ούρων. Ικανοποιητική αραιώση θα είναι εκείνη που παρέχει τιμές μεταξύ 1-3 mg/dl.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

-Bartels H. et al. Clin.Chim.Acta 37 193 (1972)

ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ

R1 : 2 x 100 ml R2 : 2 x 100 ml

ΤΕΧΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Γραμμικότητα (Linearity): Η αντίδραση είναι γραμμική στην περιοχή συγκεντρώσεων από 0,08 – 6 mg/dl

Αναλυτική ευαισθησία - όριο ανίχνευσης (Sensitivity):

Το όριο ευαισθησίας του προσδιορισμού υπολογίστηκε ότι αντιστοιχεί με 0,08 mg/dl

Πιστότητα (Precision):

Επαναληψιμότητα (Repeatability):

A. Δεδομένα εντός του αυτού κύκλου ανάλυσης:

Αριθμός δειγμάτων	Μέση Τιμή	SD mg/dl	CV %
13	1,10	0,052	4,7
14	3,21	0,087	2,7
13	4,83	0,110	2,2

Αναπαραγωγιμότητα (Reproducibility):

B. Δεδομένα διαφόρων κύκλων και ημερών ανάλυσης:

Αριθμός δειγμάτων	Μέση Τιμή	SD mg/dl	CV %
21	1,21	0,064	5,37
18	3,76	0,135	3,76
10	4,88	0,107	2,20

Παρεμποδίσεις – αλληλεπιδράσεις (Interference):

Δεν παρουσιάζουν σημαντική αναστολή μέχρι τα αναφερόμενα όρια

Παρεμποδιστής	Έκφραση σε	Όρια mg/dl
Αιμόλυση	Αιμοσφαιρίνη	~300
Θολερότητα	Τριγλυκερίδια	~1300
Ίκτερος	Χολερυθρίνη	~3

Ανάλυση παλινδρόμησης (Regression Analysis):

Μέθοδος: Γραμμική παλινδρόμηση (Linear regression)

Αριθμός Δειγμάτων : 37

Όρια συγκέντρωσης : 0,9-8,10 mg/dl

Σχέση : $y = 0,08 + 1,04 x$

Όπου y η παρούσα μέθοδος και x παρεμφερής μέθοδος προσδιορισμού.

Συντελεστής συσχέτισης $r=0,993$

