



Kapalné reagentie – připravené k použití

Kreatinin

Enzymatická, PAP

2 reagentie

Diagnostická reagentie pro kvantitativní in vitro stanovení kreatininu v lidském séru nebo moči pomocí fotometrických systémů.

REF	Velikost kytu	Obsah
DT1022BZ	4 x 50 mL	4 x 37.5 mL R1 + 4 x 12.5 mL R2

Dále nabízené			
D11485BZ	3 x 3 mL	Kalibrátor	Diacal Auto
D11481BZ	5 x 5 mL	Kontrola normální	Diacon N
D11482BZ	5 x 5 mL	Kontrola abnormální	Diacon P

PARAMETRY TESTU

Metoda	Kolorimetrická, enzymatická, endpoint, rostoucí reakce
Vlnová délka	550 nm
Teplota	37 °C
Vzorek	Sérum, moč
Linearita	do 30 mg/dL (2650 µmol/L)
Citlivost	Limit detekce je 0.14 mg/dL (12 µmol/L)

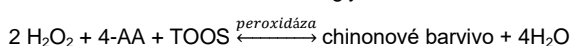
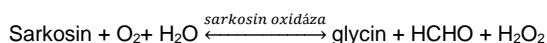
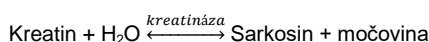
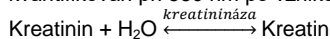
SHRNUTÍ [1, 2]

Kreatinin je chemická odpadní molekula, která je vytvářena metabolismem svalů. Kreatinin je vytvářen z kreatinu, molekuly zásadního významu pro tvorbu energie ve svalech. Přibližně 2% kreatinu v těle je každý den proměňováno na kreatinin. Kreatinin je transportován krevním řečištěm do ledvin. Ledviny většinu kreatininu odfiltrují a vyloučí jej v moči. Ledviny udržují koncentraci kreatininu v krvi v normálním rozsahu. Kreatinin byl popsán jako poměrně spolehlivý ukazovatel funkce ledvin. Když se ledviny poškodí, stoupne hladina kreatininu v krvi. Abnormálně vysoké hladiny kreatininu proto varují o možné nefunkčnosti nebo selhání ledvin, někdy i předtím jako pacient hlásí jakékoli symptomy. Z tohoto důvodu standardní krevní a močové testy běžně kontrolují množství kreatininu v krvi.

PRINCIP TESTU

Enzymatická metodika je lepší klinickou volbou pro přesné měření kreatininu, hlavně u novorozenců, dětí a krevních jednotek [3]. Enzymatická analýza kreatininu zahrnuje sérii spojených enzymatických reakcí včetně kreatininázy enzymaticky proměňující kreatinin na produkty kreatin, který je sám proměňován na sarkosin kreatinázou, co je následováno oxidací sarkosinu sarkosin oxidázou (SOD) za vzniku peroxidu vodíku.

V přítomnosti peroxidázy (POD) je peroxid vodíku kvantifikován při 550 nm po vzniku barevného produktu [4].



Absorbance vznikajícího červeného barviva je úměrná koncentraci kreatininu ve vzorku.

Jakýkoli endogenní kreatin přítomný ve vzorku je odstraněn během předinkubace kreatinázou a sarkosin oxidázou.

SLOŽENÍ REAGENCIE

SLOŽKY

Reagentie 1: (R1)

Goodův pufr, pH 7-8

Kreatináza

Sarkosin oxidáza (SOD)

TOOS

Askorbát oxidáza

Reagentie 2: (R2)

Goodův pufr, pH 7-8

Kreatinináza

Peroxidáza

4-aminoantipyrin (4-AA)

KONCENTRACE

12 - 60 KU/L

4 - 17 KU/L

0.07 - 0.21 g/L

2.5 mmol/L

135 - 670 KU/L

0.3 - 0.9 g/L

PŘÍPRAVA REAGENCIE

Start substrátem:

Reagentie jsou připraveny k použití.

Start vzorkem:

Není možný (odstranění endogenního kreatinu).

STABILITA REAGENCIE A SKLADOVÁNÍ

Podmínky:

Reagentie jsou citlivé na světlo. →

Chraňte před světlem!

Po použití okamžitě uzavřete.

Reagentie nezamrazujte!

Zabraňte kontaminaci!

Při 2-8 °C

do uvedeného data expirace

Skladování:

Stabilita

(neotevřeno):

Stabilita po

otevření:

30 dnů

PŘÍPRAVA VZORKU

Moč: Moč zředte v poměru 1 + 9 destilovanou vodou. [Diacon močové kontroly musí být zředěny stejným způsobem jako patientské vzorky moči.]

STABILITA VZORKU A SKLADOVÁNÍ [7]

Sérum:	Při 4 – 25 °C	7 dnů
	Při -20 °C	Alespoň 3 měsíce
Moč:	Při 20 – 25 °C	2 dny
	Při 4 – 8 °C	6 dnů
	Při -20 °C	6 měsíců

Zamrazujte pouze jednou! Zlikvidujte kontaminované vzorky.

POTŘEBNÉ, ALE NEDODÁVANÉ MATERIÁLY

Roztok NaCl (9 g/L)

Obecné laboratorní vybavení

STANDARD

(je třeba objednat samostatně)

Koncentrace 2 mg/dL (177 µmol/L)

Skladování: 2-25 °C

Stabilita: do data expirace

Okamžitě po použití uzavřete! Zabraňte kontaminaci!

MANUÁLNÍ PROVEDENÍ TESTU

Reagentie a vzorky nechte dosáhnout pokojové teploty.

Pipetujte do zkumavek	Blank:	Std/Kal.	Vzorek
Reagentie 1	900 µL	900 µL	900 µL
Vzorek	-	-	25 µL
Standard/kalibrátor	-	25 µL	-
Dest. voda	25 µL	-	-
Smíchejte. Inkubujte 5 minut při 37°C a změřte absorbanci A1 při 550 nm oproti blanku. Potom přidejte:			
Reagentie 2	300 µL	300 µL	300 µL
Smíchejte. Inkubujte 5 minut při 37°C a změřte absorbanci A2 při 550 nm oproti blanku.			
Vypočítejte $\Delta A = (A2 - 0.755 A1)$ vzorku nebo standardu			



VÝPOČET

Sérum:

$$\text{Kreatinin [mg/dL]} = \frac{\Delta A \text{ Vzorku}}{\Delta A \text{ Std/Kal}} \times \text{konc. Std/Kal. [mg/dL]}$$

Moč:

$$\text{Kreatinin [mg/dL]} = \frac{\Delta A \text{ Vzorku}}{\Delta A \text{ Std/Kal}} \times \text{konc. Std/Kal. [mg/dL]} \times 10$$

PŘEVOD JEDNOTEK

mg/dL x 88.4 = μmol/L.

REFERENČNÍ ROZSAHY [6]*

Sérum:

	mg/dL	μmol/L
Ženy	0.51 – 0.95	45 – 84
Muži	0.67 – 1.17	59 – 104

První ranní moč:

	mg/dL	μmol/L
Ženy	29 – 226	2550 – 20000
Muži	40 – 278	3540 – 24600

* Tyto hodnoty jsou pro orientační účely. Každá laboratoř by si měla zkontrolovat, zda jsou referenční rozsahy přenositelné na její populaci pacientů a v případě potřeby určit vlastní referenční rozsahy.

Jisté léky mohou někdy způsobovat abnormálně zvýšené hladiny kreatininu.

CHARAKTERISTIKY ČINNOSTI

LINEARITA, ROZSAH MĚŘENÍ:

Test byl vyvinut pro stanovení koncentrací kreatininu v rámci rozsahu měření od 0.14 - 30 mg/dL. Pokud hodnoty překračují tento rozsah, je třeba vzorky zředit roztokem NaCl (9 g/L) a výsledek vynásobit faktorem ředění.

CITLIVOST/LIMIT DETEKCE

Spodní limit detekce je 0.14 mg/dL (12 μmol/L).

PRECIZNOST (při 37 °C)

Testování séra

Preciznost v rámci běhu n= 80	Průměr [mg/dL]	SD [mg/dL]	CV [%]
Vzorek 1	0.74	0.015	2.1
Vzorek 2	1.38	0.015	1.1
Vzorek 3	4.04	0.029	0.7

Celková preciznost n= 80	Průměr [mg/dL]	SD [mg/dL]	CV [%]
Vzorek 1	0.74	0.022	3.0
Vzorek 2	1.38	0.026	1.9
Vzorek 3	4.04	0.058	1.4

Testování moči

Preciznost v rámci běhu n= 80	Průměr [mg/dL]	SD [mg/dL]	CV [%]
Vzorek 1	29.09	0.10	0.36
Vzorek 2	87.1	0.27	0.31
Vzorek 3	196.7	0.90	0.46

Celková preciznost n= 80	Průměr [mg/dL]	SD [mg/dL]	CV [%]
Vzorek 1	29.9	0.79	2.64
Vzorek 2	87.7	0.67	0.76
Vzorek 3	195	1.19	0.60

SPECIFICITA/INTERFERENCE

Žádná interference do koncentrace:

Kyselina askorbová	10 mM	
Bilirubin	40 mg/dL	
Bilirubin (konj.)	30 mg/dL (sérum)	40 mg/dL (moč)
Hemoglobin	500 mg/dL (sérum)	1000 mg/dL (moč)
Triglyceridy	1000 mg/dL	

Pro další informace o interferujících látkách viz Young DS [8].

POROVNÁNÍ METOD

Tato metoda byla porovnána s legálně prodávanou analýzou kreatininu (x) za použití vzorků séra s hodnotami od 0.2 do 13.51 mg/dL (17.7 – 1194 μmol/L) a vzorků moči s hodnotami od 0.14 – 141 mg/dL (12.4 – 12434 μmol/L):
 Vzorky séra: y = 0.9467 x + 0.0643; r = 0.9981
 Vzorky moči: y = 1.0002 x - 0.0518; r = 0.9968

KALIBRACE

Analýza vyžaduje použití standardu kreatininu nebo kalibrátoru. Doporučujeme Dialab multikalibrační sérum **Diacal Auto**.

Hodnoty kalibrátoru jsou vysledovatelné k NIST (Národní institut pro standardizaci) standardnímu referenčnímu materiálu SRM 967 s použitím hladiny 1 a 2 a proto i k GC-IDMS (plynová chromatografie-hmotnostní spektrometrie s izotopovým zředěním).

POZNÁMKA: kalibrace sérových vzorků vodným standardem může způsobit odchylku spojenou s matricí. Doporučuje se kalibrovat sérové vzorky kalibrátorem založeným na séru.

KONTROLA KVALITY

Je možné použít všechna kontrolní séra a močové kontroly s hodnotami kreatininu stanovenými touto metodou.

Doporučujeme sérové kontroly Dialab **Diacon N** (kontrolní sérum s hodnotami v normálním rozsahu) a **Diacon P** (kontrolní sérum s hodnotami v abnormálním rozsahu)

Každá laboratoř by měla zavést opravná opatření v případě odchylek při měření kontrol.

AUTOMATIZACE

Speciální aplikace pro automatické analyzátoř mohou být vytvořeny na požádání.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Reagencie obsahuje azid sodný (0.95 g/L) jako konzervant. Nepolykejte! Zabráňte styku s pokožkou a sliznicemi.
2. Léčba N-acetylcysteinem (NAC), acetaminofenem a metamizolem vede k falešně nízkým výsledkům v patientských vzorcích.
3. Viz prosím bezpečnostní list a dodržujte nutná opatření pro práci s laboratorními reagenciemi.
4. Pro diagnostické účely musí být výsledky vždy hodnoceny spolu se zdravotní historií pacienta, klinickými vyšetřeními a jinými zjištěními.
5. Pouze pro profesionální použití!

NAKLÁDÁNÍ S ODPADEM

Postupujte prosím podle místních právních požadavků.

LITERATURA

1. Tietz, N.W. (Ed.): Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Co., Philadelphia, 865 (1982)
2. National Kidney Foundation K/DOQI. Clinical Practice Guidelines for chronic kidney diseases: evaluation, classification and stratification. Am J Kidney Dis 2002; 39:S1-S200.
3. Badiou S, Dupuy AM, Descomps B, Cristolead, JP. Comparison between the enzymatic vitros assay for creatinine determination and three other methods adapted on the Olympus analyzer. Journal of Clinical Laboratory Analysis 2003;14, 235-240.
4. Hayes AW. Principles and Methods of Toxicology, Taylor & Francis, 1028 (2001).
5. Cristenson RH, Johnson LJ, Gregory, LC. Appleton and Lange's Outline Review Clinical Chemistry, McGraw-Hill Professionals, 118 (2001).
6. Mazzachi BC, Peake MJ, Ehrhardt V. Reference Range and Method Comparison Studies for Enzymatic and Jaffé Creatinine Assays in plasma and Serum and Early Morning Urine. Clin Lab 2000; 46:53-55.
7. Guder WG, Zawta B Recommendations of the Working group on Preanalytical Quality of the German Society for Clinical Chemistry and German Society for Laboratory Medicine. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p 24-5, 50-1.
8. Young DS. Effect of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.

