کیت سنجش Creatinine

(Colorimetric (Jaffe' Method))

REF: PA25001-400 R1 4 x 80 mL / R2 1 x 80 mL

ISO: 13485:2016

مقدمه:

کراتی نین بر خلاف اوره با یک نسبت تقریباً ثابت وارد گردش خون شده و تمامی آن از تصفیه گلومرولی (GFR) عبور و از طریق ادرار دفع میگردد. سطح کراتی نین کمتر تحت تأثیر رژیم غذایی، سن، جنس و تمرینات قرار میگیرد. روی این اصل در مقایسه با تست اوره آزمایش بهتری است. اندازه گیری کراتی نین برای ارزیابی کارکرد کلیه ها مفید است و تنها زمانی مقدار آن بالا میرود که کلیه ها ۵۰٪ فعالیت خود را از دست داده باشند. کلیرانس کراتی نین فاکتور خوبی برای تخمین میزان تصفیه گلومرولی، همچنین عملکرد کلیه ها است و برای این منظور کراتی نین سرم و ادرار ۲۴ ساعته بطور همزمان مورد بررسی قرار میگیرند.

روش : Colorimetric (Jaffe' Method)

اصول آزمایش:

کراتینین با پیکریک اسید در یک محیط قلیایی کمپلکس رنگی تشکیل میدهد ، سرعت تشکیل کمپلکس رنگی بین نمونه و پیکرات متناسب با مقدار کراتی نین است که در طول موج ۵۲۰-۵۰۰ خوانده میشود. (حذف تداخل مواد موجود در ماتریس سرم با استفاده از روش Kinetic مناسبتر است).

Creatinine+Picric acid $\xrightarrow{\text{Alkali Medium}}$ Creatinine-Picrate (Complex)

محتویات کیت:

Reagent Bottle	Description	Content
R1	Sodium Hydroxide	0.29 mmol/L
R2	Picric Acid	17.5 mmol/L

نمونه مورد آزمایش:

سرم یا پلاسمای هپارینه بدون آمونیوم یا EDTA دار و ادرار.

- **پایداری کراتنین در سرم و پلاسما، دمای ۲۵-۱۵ درجه سانتیگراد ۲ روز و دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد۷ روز و در دمای منهای ۲۰ درجه سانتیگراد ۳ ماه میباشد .**
- **پایداری کراتینین در ادرار، دمای ۲۵-۱۵ درجه سانتیگراد ۲ روز و دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد۷ روز در دمای منهای ۲۰- درجه سانتیگراد ۶ ماه میباشد .**
- **ادرار را میتوان به نسبت ۱ به ۵۰ با آب مقطر رقیق شود. برای مثال ۱۰ میکرولیتر ادرار را با ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر مخلوط شود و عدد بدست آمده در عدد ۵۱ ضرب شود. یا به نسبت ۱ به ۱۰۰ با آب مقطر رقیق و عدد بدست آمده را در ۱۰۱ ضرب نمایید به این ترتیب در فرمول محاسباتی به حای عدد ۵۱ باید عدد ۱۰۱ قرار دهید .**

آماده سازی محصول:

تهیه محلول برای حالت دو محلول جدا از هم(Substrate Start) : معرف‌های R1 و R2 بصورتی که جداگانه مورد استفاده قرار گیرند (Substrate Start)آماده مصرف می‌باشند.

تهیه محلول کار آماده برای تک محلول(Sample Start) : بسته به نیاز ۴ قسمت از معرف R1 را با یک قسمت از معرف R2 مخلوط نمایید، (برای مثال ۸ میلی‌لیتر معرف (R1) را با ۲ میلی‌لیتر معرف (R2) به آرامی مخلوط کنید . پایداری این محلول کار ۱ روز در دمای ۲۵-۱۵ درجه سانتیگراد می‌باشد. محلول را دور از نور نگهداری نموده و از آلوده شدن آن خودداری شود.

مواد و وسایل مورد نیاز:

۱-کووت مناسب با قطر یک سانتیمتر

۲- اسپکتروفتومتر یا کالریمتر با قابلیت اندازه گیری در دامنه ۵۱۰ نانومتر

۳- بن ماری ۳۷ درجه سانتیگراد (۰/۱ درجه سانتیگراد)

۴- سمپلر دقیق و کالیبره شده

۵- نوک سمپلر نو و تمیز زرد و آبی

۶- دستگاههای عمومی آزمایشگاه

۷-استاندارد یا کالیبراتور معتبر (میتوان از مولتی کالیبراتور عرضه شده توسط شرکت پارس پیوند پویش استفاده نمود.)

نگهداری و پایداری:

- معرفها در دمای ۲۵-۱۵ درجه سانتیگراد تا تاریخ انقضاء مندرج برروی ویالها پایدار می باشند، مشروط بر اینکه درب ویالها بسته و آلوده نگردند

روش انجام آزمایش:

پارامترها: دما: ۳۷ درجه سانتیگراد / **طول موج**: ۵۱۰ نانومتر / **کووت**: یک سانت / **خوانش**: مقابل آب مقطر / **نوع واکنش**: افزایشی

تک محلول: Sample Start

نمونه (کالیبراتور یا سرم بیمار یا ادرار رقیق شده)	۱۰۰ میکرولیتر
محلول کار آماده	۱۰۰۰ میکرولیتر
پس از مخلوط نمودن مقدار جذب نوری را در ۵۱۰ نانومتر بعد از ۶۰ ثانیه اندازه گیری نمایید، کرنومتر را بکار انداخته و دقیقاً پس از ۱۲۰ ثانیه اختلاف جذب نوری را از خوانش قبل تعیین نمایید. A/minΔ	

دو محلول: Substrate Start

معرف R1	۸۰۰ میکرولیتر
معرف R2	۲۰۰ میکرولیتر
مخلوط کرده، برای مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ °C انکوبه نمایید سپس نمونه اضافه شود:	
نمونه	۱۰۰ میکرولیتر
پس ازمخلوط نمودن،جذب نوری را در ۵۱۰ نانومتر پس از ۶۰ ثانیه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد اندازه گیری نمایید، کرنومتر را بکار انداخته و دقیقاً پس از ۱۲۰ ثانیه اختلاف جذب نوری را از خوانش قبل تعیین شود. ΔA/min	

✓ پارامترهای این کیت برای آنالایزرهای مختلف موجود است لطفاً جهت دریافت با بخش فنی شرکت پارس پیوند پویش تماس حاصل فرمائید.

محاسبه با استفاده از کالیبراتور:

$$\text{Creatinine (mg/dl)} = \frac{(A_2 - A_1)\ \text{Sample}}{(A_2 - A_1)\ \text{Calibrator}} \times \text{Calib. Conc.}$$

$$\text{Creatinine (mg/L/24h)} = \frac{\Delta A\text{Sample}/\Delta A\ \text{Calib.x Calib.Valuex}\mathbf{51}\text{xUrine Vol.(ml)}}{100}$$

کنترل کیفی:

جهت کنترل کیفی میتوان از سرم کنترل های معتبر که توسط شرکت پارس پیوند پویش عرضه می شود استفاده نمود.

ضریب تبدیل واحد معمول (conventional) به واحد بین المللی(SI) و بلعکس :

1 mg/dl = 88.4 µmol/L **1 µmol/L = 0.0113mg/dl**

Conventional unit mg/dl	SI unit µmol/L

خصوصیات علمی کیت:

۱- محدوده اندازه گیری:

ماکزیمم حد سنجش: 8 mg/dL

حساسیت: (ΔmA) 0.01 mg/dl 0.00180

توجه:

- نمونه های بیش از 8 mg/dl را به نسبت ۱+۱ با سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد NaClرقیق نموده آزمایـش را تکرار و نتیجه را در عدد ۲ ضرب نمایید.
- جهت انجام این آزمایش از پیپتهای شیشه ای تمیز و نوک سمپلر نو استفاده شود.

۲- **صحت:** در مقایسه با کیت و کنترلهای معتبر مشابه

$y=1.0076X - 0.0075$ $R^2=0.9923$

۳- **دقت:**

INTRA ASSAY (WITHIN-RUN) (n=20)

	Mean (mg/dL)	S.D. (mg/dL)	CV%
Sample I	1.84	0.03	1.63
Sample II	7.04	0.07	0.99

INTER ASSAY (Between RUN) (n=20)

	Mean (mg/dL)	S.D. (mg/dL)	CV%
Sample I	2.9	0.06	2.06
Sample II	6.3	0.12	1.9

REFERENCES:

. Murray R.L. Creatinine. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis
. Toronto. Princeton 1984; 1261-1266 and 418
. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995
. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001
. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999
.Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995

$$\text{Clearance (ml/min)} = \frac{\text{Urine Cr} \times \text{24 -hour Urine Volume}}{\text{Serum Cr} \times 24 \times 60}$$

$$\text{Corrected Clearance (ml/min)} = \frac{\text{Clearance (ml/min)} \times 1.73}{\text{Body Surface Area (BSA)}}$$

مقادیر طبیعی:

در سرم یا پلاسما:

مردان: 0.6 -1 .4 mg/dl

زنان: 0.6 -1 .1 mg/dl

کلیرانس کراتی‌نین :

مردان: 90 - 139 ml/min

زنان: 80 -125 ml/min

در ادرار ۲۴ ساعته:

مردان: 800 - 2000 mg/24h or 0.8 - 2 g/day

زنان: 600 - 1800 mg/24h or 0.6 - 1.8 g/day

* توصیه می شود هر آزمایشگاه مقادیر طبیعی مربوط به محدوده جمعیتی خود را تعیین کند.*

✓ **نسبت BUN به کراتینین (BUN/Creatinine Ratio) :**

با محاسبه این نسبت میتوان بیماریهای کلیوی را دسته بندی کرد :

مکانیسم	موقعیت بیماری در کلیه	BUN:Cr ratio mg/dl
کاهش جریان فیلتراسیون گلومرولی و افزایش باز جذب اوره	Pre-renal disease (قبل از گلومرولها)	>20:1
نسبت طبیعی ویا بودن سنگ و انسداد در درون یوریتر	Normal or Post-renal disease (حالت طبیعی یا بودن مشکل دریوریتر)	10-20:1
آسیب دیدگی کلیه و عدم توانایی بازجذب اوره	Inter-renal disease (اختلالات درون کلیوی)	<10:1

احتیاط در هنگام کار :

کلیه موارد ایمنی معمول در آزمایشگاه در هنگام کار با محلولها رعایت گردد و از وسایل حفاظت فردی استفاده شود.

دفع پسماند :

براساس دستورالعمل های وزارت بهداشت ، درمان و آموزش پزشکی عمل شود .

تداخلات :

بیلی روبین تا 4 mg/dl ، هموگلوبین تا 200 mg/dl ، تری گلیسرید تا 800 mg/dl تاثیری بر نتیجه آزمایش ندارند .