

KULLANIM AMACI

Serum ve idrardaki kreatinin miktarının in vitro olarak belirlenmesi

METODOLOJİ

Jaffe 1886'da kreatinin belirlenmesi için bir proteinsiz filtrasyon ve alkali çözeltisi içinde pikrik asitle bir reaksiyondan oluşan bir yöntem açıklamıştır. O zamandan beri değişik yöntemler açıklanmış olmasına rağmen klasik Jaffe reaksiyonu yöntemi halen en geniş çapta kullanılmaktadır. Jaffe reaksiyonu bazı reaktiflerin interferan etkisine tabidir bunlara protein ve glikoz dahildir. Sakıncaları ile mücadele etmek üzere prosedüre değişiklikler geliştirilmiştir. Kinetik prosedürler hızlı ve basit olup interferan etkiden sakındıkları için popüler olmuşlardır. Buradaki yöntem yukarıda bahsedilen prosedürün bir değişikliğine dayanmakta olup protein ve karbonhidrat interferan etkisini en aza indirmek amacıyla bir yüzey etkin reaktif ile diğer içeriklerin ilavesini öngörmektedir.

Prensip :
 Kreatinin + Sodyum pikrat $\xrightarrow{\text{Alkali Ortam}}$ Kreatinin-Pikrat bileşiği
 (sarı – turuncu)

Kreatinin alkali ortamda pikrik asitle reaksiyona girerek 510nm'de absorbsans veren bir renkli bileşik oluşturur. Renk oluşumunun değeri numunedeki kreatinin miktarı ile orantılıdır.

REAKTİFİN BİLEŞİMİ

Aktif İçerik	Konsantrasyon
Reaktif 1	
Sodium hydroxide	350 mM
pH 13.0 ± 0.2	
Reaktif 2	
Picric acid	10 mM
pH 2,6 ± 0.1	

Uyarılar:

1. Bu reaktif sadece in vitro teşhis içindir.
2. Pikrik asit kuvvetli bir oksitleyicidir. Cilt temasından sakının.
3. Sodyum hidroksit bir alkalidir. Yutmaktan ve temastan kaçının.

Reaktif 1 ve Reaktif 2:

H314 Ciddi cilt yanıklarına ve ciddi göz hasarına yol açar
P303+P361+P353 DERİ İLE TEMAS HALİNDE; kirlenmiş tüm giysilerinizi çıkartın , cildinizi su ile yıkayın/duş alın.
P304+P340 SOLUNDUĞUNDA: Nefes alıp vermesi zorlaşmış ise, mağduru temiz havaya çıkartın ve kolay biçimde nefes alması için rahat bir pozisyonda tutun.
P305+P351+P338 Gözle teması halinde suyla birkaç dakika durulayınız. Takılı ve yapması kolaysa kontakt lensleri çıkarınız. Durulamaya devam ediniz.
Koruyucu gözlük /maske kullanın.

REAKTİFİN HAZIRLANMASI

Her iki reaktif kullanıma hazır sıvı halde temin edilir. Bazı analizörlerde çalışma reaktifi hazırlama için: 1kısım Reaktif 1 ile 1kısım Reaktif 2 kullanılır.
 (örneğin 5 mL R1 + 5 mL R2)

REAKTİFİN SAKLANMASI

1. Reaktifi 15-25°C'de muhafaza edin (oda ısısı).
2. Reaktif 15-25°C'de muhafaza edildiğinde son kullanma tarihine kadar dayanır.
3. Çalışma reaktifi 15-25°C'de muhafaza edildiğinde 24 saat dayanır.

REAKTİFİN BOZULMASI

Aşağıdaki Durumlarda Reaktifi Kullanmayın:
 1. Reaktif bulanık ise (kontamine olmuşsa)
 2. Reaktif parametreleri performans parametrelerini karşılamıyor ise.

ÖRNEK ALINMASI VE DEPOLANMASI

1. Hemolize olmamış serum tavsiye edilir.
2. İdrar numunesi 34 ile 64 mg/dL arası nihai konsantrasyonuna kadar sulandırılmalıdır. 1:100 oranında sulandırma tavsiye edilir.
3. Serum içindeki kreatinin, buzdolabında (2-8°C) yedi gün, donmuş olarak (-20°C) ve buharlaşma ve kirlilikten korunduğunda birkaç ay dayanır. İdrar numuneleri 4°C de en az 7 gün dayanır.

İNTERFERAN ETKİ

Hemoglobin: 500 mg/dL ye kadar interferan etki söz konusu değildir.
Lipemi: 1500 mg/dL ye kadar Trigliserid varlığında interferan etki söz konusu değildir.
Asorbik asit: 25 mg/dL ye kadar interferan etki söz konusu değildir.

GEREKLİ OLUP TEMİN EDİLMESİ GEREKEN İLAVE DONANIM

1. 37°C sabit sıcaklığa sahip 510nm (505-515nm) de absorbsans ölçebilecek bir Klinik kimya analizörü.
2. Deiyonize su ve ilgili donanım, örneğin pipetler
3. Analizörün ilgili sarf malzemeleri, örneğin numune ve okuma kapları
4. Kontrol ve kalibratör materyalleri.

PROSEDÜR

Dalga Boyu : 510 nm
 Sıcaklık : 37°C
 Optik Yol : 1 cm
 Test Tipi : Sabit zaman
 Reaksiyon Yönü : Artan

1. Distile su ile fotometrenin sıfır (0) ayarı yapılır.

Reaktif	Standart	Numune
Reaktif 1 (R1)	500 µL	500 µL
Reaktif 2 (R2)	500 µL	500 µL
Standart	100 µL	--
Numune	--	100 µL

2. Karıştırılır ve 37°C' de inkübe edilir.
3. 60 saniye sonra başlangıç absorbsansı okunur. (Abs.A1)
4. Tüp tekrar 37°C' ye konur ve 120 saniye sonra final absorbsansı okunur. (Abs.A2)
5. Numune ve standart için ΔAbs hesaplanır.

Prosedür Notları:

Muhtelif cihaz gereklerinin yerine getirilmesi için reaktif ve numune hacimleri orantılı olarak artırılabilir.

Hesaplama:

(Abs=Absorbans)

$\Delta \text{Abs Hast}$ x Standartın konsantrasyonu (mg/dL) = Kreatinin (mg/dL)

Abs Standart

KISITLAMALAR:

25 mg/dL üzeri değerlerdeki numuneler 1:1 serum fizyolojik ile sulandırılıp tekrar tahlil edilerek sonuçlar iki ile çarpılmalıdır.

KALİBRASYON

Kreatinin standardı veya kalibratörü kullanılır.

KALİTE KONTROL

Reaksiyonun bütünlüğü, belirli kreatinin değerleri bulunan iki kontrol seviyesi kullanımıyla takip edilmelidir.

NORMAL DEĞER ARALIĞI

Serum 0,60 – 1,40 mg/dL

İdrar 0,80 – 2,00 g/gün

Her laboratuvarın kendi referans limitlerini oluşturması tavsiye edilir.

PERFORMANS
Hassasiyet/ Tespit Limiti (LOD) :

Alt tespit limiti 0,014 mg/dL'dir

Lineerite : Tavsiye edildiği şekilde çalışıldığında test 25 mg/dL' ye kadar lineerdir. Bunu değeri aşan numuneler NaCl (9 g/L) ile 1+1 dilüe edilir ve sonuç 2 ile çarpılır.

Kesinlik :

	Çalışma içi (n=20)		Çalışma arası (n=20)	
Ort (mg/dL)	1,13	3,52	1,11	3,21
SD	0,02	0,02	0,04	0,21
CV(%)	1,53	0,056	3,19	3,82

Doğruluk (Methot Karşılaştırma) :

BT PRODUCTS Reaktifi ile elde edilen sonuçlar (y), başka bir ticari reaktif (x) ile karşılaştırıldığında sistematik olarak farklılık göstermemiştir. 40 örnek çalışılarak elde edilen sonuçlar aşağıdaki gibidir:

Etkileşim katsayısı(r) = 0,9998

Regresyon eşitliği y = 1,0091x - 0,0708

Performans karakteristik sonuçları kullanılan cihaza bağlıdır.

BİLİMSSEL KAYNAKÇA

1. Tilzer L.L., Jacobs D.S. "Laboratory Test Handbook" 3rd Ed, Lexi-Comp Inc., p.202 (1994).
2. Jaffe, M., Z. Physiol. Chem. 10:391 (1886).
3. DiGiorgio, J., Clinical Chemistry: Principles and Technics, 2nd Ed., Edited by Henry, R.J., et al, Hagerstown (MD), Harper & Row, pp. 541-553 (1974).
4. Cook, J.G.H., Ann. Clin. Biochem. 12:219 (1975).
5. Taussky, H.H., Standard Methods of Clinical Chemistry, Vol. 3, New York Academic Press, p.99 (1966).
6. Heinegard, D., Tiderstrom, G., Clin. Chem. Acta, 43:305 (1973).
7. Fabiny, D.L., Ertingshausen, G., Clin. Chem. 17:391 (1971).
8. Tietz N.W. (Ed). Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders, 1986;1278.
9. Young, D.S. et al. Clin. Chem. 21:1D (1975).
10. Henry RJ (Ed), Clin. Chem., Principles and Technics (2nd Ed), Harper and Row, 1974;548-551.



Caution, refer to accompanying documents.
 Beraberindeki dokümanları inceleyiniz.



Biological risk.
 Biyolojik risk



Consult instructions for use.
 Kullanım için prospektüsünü okuyun.



Do not dispose of in environment.
 Çevreyi kirlenmeye çöpe atınız.



Manufacturer / Üretici
 BİLİMSSEL TIBBİ ÜRÜNLER PAZ.SAN.VE TİC.LTD.ŞTİ

BİLİMSSEL TIBBİ ÜRÜNLER PAZARLAMA SANAYİ VE TİCARET LİMİTED ŞİRKETİ

9 Eylül Mah. 312/1 Sokak No:12 Gaziemir - İZMİR - TÜRKİYE • Tel.:+90.232. 262 60 83 • Fax:+90.232. 250 61 23
 www.btproducts.com.tr - www.bilimseltip.com

Rev.Date / No: 30.08.2023 / 12

INTENDED USE

 For the *in vitro* quantitative determination of Creatinine in serum and urine

METHODOLOGY

Jaffe described a method in 1886 for the determination of creatinine involving a protein free filtrate and a reaction with picric acid in alkaline solution. Although since then several methods have been described the classic Jaffe reaction method is still the most widely used. The Jaffe reaction is subject to interferences by a number of substances, including protein and glucose. Modifications of the procedure have been developed to combat the drawbacks. The kinetic procedures have become popular because they are fast, simple and avoid interferences. This method is based on a modification of the above procedure, incorporating a surfactant and other ingredients to minimize protein and carbohydrate interferences.

Principle: Alkali Medium

 Creatinine + Sodium Picrate $\xrightarrow{\text{Alkali Medium}}$ Creatinine-picrate complex (yellow-orange)

Creatinine reacts with picric acid in alkaline conditions to form a color complex which absorbs at 510(505-515) nm. The rate of formation of color is proportional to the creatinine in the sample.

REAGENT COMPOSITION
Active Ingredients
REAGENT 1

 Sodium hydroxide
 pH 13.0 ± 0.2

Concentration

350 mM

REAGENT 2

 Picric acid
 pH 2,6 ± 0.1

10 mM

Precautions

1. This reagent is for *in vitro* diagnostic use only.
2. Picric Acid is a strong oxidizing agent. Avoid contact with skin
3. Sodium hydroxide is an alkali. Avoid ingestion and contact.

Reagent 1 and Reagent 2:
H314 Causes severe skin burns and serious eye damage.
P303+P361+P353 IF ON SKIN: Remove/take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water/shower
P304+P340 IF INHALED: Remove victim to fresh air and keep at rest in position comfortable for breathing.
P305+P351+P338 IF IN EYES: Rinse continuously with water for several minutes.
Remove contact lenses if present and easy to do. Continue rinsing. Wear suitable gloves and eye/face protection.
REAGENT PREPARATION

Reagents are supplied in a two vial, ready to use, liquid form.

For example analyzers, the reagents can be combined to make a working solution by mixing 1 part of Reagent 1 with 1 part of Reagent 2. (e.g., 5 mL R1 + 5 mL R2)

REAGENT STORAGE

1. Store the reagent at 15-25°C (room temperature).
2. The reagent is stable until the expiration date when stored at 15-25°C.
3. Working reagent is stable for 24 hours when stored at 15-25°C.

REAGENT DETERIORATION

The reagent should not be used if:

1. The reagent is cloudy (contaminated).
2. The reagent fails to meet stated parameters of performance.

SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

1. Unhemolyzed serum is recommended.
2. Urine should be diluted to a final concentration of approximately 34 to 64 mg/dL. 1:100 dilution is recommended.
3. Creatinine in serum is stable for 7 days at refrigerated temperatures (-2-8°C) and for several months when frozen (-20°C) and protected from evaporation and contamination. Urine samples are stable for at least 7 days at 4°C.

INTERFERENCES
Hemoglobin: No interference up to 500 mg/dL.

Lipemia: No interference in the presence of triglycerides up to 1500 mg/dL.

Ascorbic acid: No interference up to 25 mg/dL.

ADDITIONAL EQUIPMENT REQUIRED BUT NOT PROVIDED

1. A clinical chemistry analyzer capable maintaining constant temperature (37°C), and measuring absorbance at 510 (505-515nm).
2. Deionized water and related equipment, e.g.: pipettes
3. Analyzer specific consumables, e.g.: sample and read cups

4. Control and calibrator materials.
PROCEDURE

 Wavelength : 510 (505-515) nm
 Working temperature : 37°C
 Optical path : 1 cm
 Assay type : Fixed time
 Direction : Increase

1. Set to photometer to 0 (zero) absorbance with distilled water.

	Standard	Sample
Reagent 1 (R1)	500 µL	500 µL
Reagent 2 (R2)	500 µL	500 µL
Standard	100 µL	--
Sample	--	100 µL

2. Mix and incubate at 37°C.
3. After 60 sec., read the record absorbance. (Abs.1)
4. Return tube to 37°C and after 120 sec. read the final absorbance (Abs.2)
5. Determine the ΔAbs. for sample and standard.

Procedure Note:

The reagent and sample volumes may be altered proportionally to accommodate various instrument requirements.

CALCULATIONS:

(Abs = Absorbance)

 $\frac{\Delta \text{Abs Sample}}{\Delta \text{Abs standard}} \times \text{Concentration of standard (mg/dL)} = \text{Creatinine (mg/dL)}$
LIMITATIONS

Samples with values exceeding 25 mg/dL should be diluted 1:1 with saline and re-run. The final answer should be multiplied by two.

CALIBRATION

Use an aqueous creatinine standard or an appropriate serum calibrator.

QUALITY CONTROL

The integrity of the reagent should be monitored by use of a two level control with known Creatinine values.

EXPECTED VALUE

Serum: 0.60 – 1.40 mg/dl

Urine: 0.80 – 2.00 g/day

It is highly recommended that each laboratory establish its own reference range.

PERFORMANCE
Sensitivity/ Limit of Detection(LOD):

The lower limit of detection is 0,014 mg/dL.

Linearity:

When the recommendation is designed and studied, the test is linear up to 25 mg/dL. Samples exceeding this value are diluted 1+1 with NaCl (9 g/L) and the result is multiplied by 2.

Precision :

	Within run (n=20)		Between run (n=20)	
Mean (mg/dL)	1,13	3,52	1,11	3,21
SD	0,02	0,02	0,04	0,21
CV(%)	1,53	0,056	3,19	3,82

Accuracy (Method Comparison) :

Results obtained BTPRODUCTS Reagents (y), did not show systematic differences when compared with other commercial reagents(x). The results obtained using 40 samples were the following:

Correlation Coefficient (r) = 0,9998

 Regression $y = 1,0091x - 0,0708$

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

REFERENCES

1. Tilzer L.L., Jacobs D.S. "Laboratory Test Handbook" 3rd Ed, Lexi-Comp Inc., p.202 (1994).
2. Jaffe, M., Z. Physiol. Chem. 10:391 (1886).
3. DiGiorgio, J., Clinical Chemistry: Principles and Technics, 2nd Ed., Edited by Henry, R.J., et al, Hagerstown (MD), Harper & Row, pp. 541-553 (1974).
4. Cook, J.G.H., Ann. Clin. Biochem. 12:219 (1975).
5. Taussky, H.H., Standard Methods of Clinical Chemistry, Vol. 3, New York Academic Press, p.99 (1966).
6. Heinegard, D., Tiderstrom, G., Clin. Chem. Acta, 43:305 (1973).
7. Fabiny, D.L., Erlingshausen, G., Clin. Chem. 17:391 (1971).
8. Tietz N.W. (Ed). Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders, 1986;1278.
9. Young, D.S. et al, Clin. Chem. 21:1D (1975).
10. Henry RJ (Ed), Clin. Chem., Principles and Technics (2nd Ed), Harper and Row, 1974;548-551.


 Caution, refer to accompanying documents.
 Beraberindeki dokümanları inceleyiniz.

 Biological risk.
 Biyolojik risk

 Consult instructions for use.
 Kullanım için prospektüsünü okuyun.

 Do not dispose of in environment.
 Çevreyi kirlenmeyin çöpe atınız.

 Manufacturer / Üretici
 BİLİMSEL TIBBİ ÜRÜNLER PAZ.SAN.VE TİC.LTD.ŞTİ

BİLİMSEL TIBBİ ÜRÜNLER PAZARLAMA SANAYİ VE TİCARET LİMİTED ŞİRKETİ

 9 Eylül Mah. 312/1 Sokak No:12 Gaziemir - İZMİR - TÜRKİYE • Tel.:+90.232. 262 60 83 • Fax:+90.232. 250 61 23
 www.btpproducts.com.tr - www.bilimseltip.com