

	Јавна здравствена установа Болница „Свети Врачеви“ Бијељина Српске војске 53			MI-10-029
Упутство за методу испитивања креатинина				
Страна 1 од 6	Издање:	Важи од:	Одобрио	Копија број
	2	2023-03-22	мр пх Анђела Митровић руководилац Службе за хематолошку и биохемијску дијагностику	Е

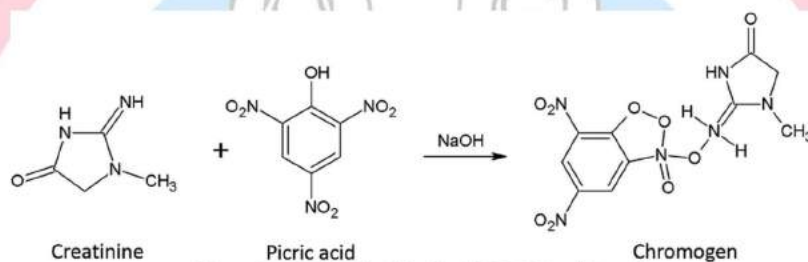
1. СВРХА ИСПИТИВАЊА

Креатинин тест користи се за квантитативно одређивање креатинина у хуманом серуму плазми и урину. Одређивање креатинина у серуму користи се за дијагнозу и праћење акутне и хроничне болести бубрега, одређивање брзине гломеруларне филтрације или оцјену стања пацијената са нарушеном функцијом бубрега лијечених дијализом. Концентрација креатинина у серуму је повишена код смањене функције бубрега. Одређивање креатинина у урину користи се за израчунавање клиренса креатинина или као референти аналит при одређивању других аналита, нпр. за израчунавање односа албумина и креатинина.

2. ПРИНЦИП И МЕТОД ПРОЦЕДУРЕ КОЈА СЕ КОРИСТИ ЗА ИСПИТИВАЊЕ

При алкалном рН креатинин из узорка реагује са пикратом, при чему настаје комплекс креатинин-пикрат. Брзина пораста апсорбације на 500 nm услјед стварања комплекса, пропорционална је концентрацији креатинина у узорку.

Методологија: Спектрофотометријска метода, *Jaffe*–кинетичка метода; кинетички UV тест



3. КАРАКТЕРИСТИКЕ ПЕРФОРМАНСИ

3.1. Линеарност

Креатинин тест за узорке серума линеаран је у опсегу од 17,7 до 3270,8 $\mu\text{mol/L}$ у распону $\pm 10\%$, са 95%-тном поузданошћу.

3.2. Граница детекције (LOD- eng. Limit of Detection)

LOD је најмања количина аналита у узорку која се може одредити уз вјероватноћу од 95 %. LOD за креатинин у серуму је 4,5 $\mu\text{mol/L}$.

3.4. Граница квантификације (LOQ)

Граница квантификације (LOQ) је концентрација аналита која се може одредити уз KV=20 %. (%KV-коэффициент варијације). LOQ за креатинин у серуму је 8,8 $\mu\text{mol/L}$.

3.5. Прецизност

Прецизност Креатинин теста је $\leq 6\%$ укупног %KV, за узорке серума. Репрезентативни резултати испитивања прецизности теста помоћу CLSI-овам протокола NCCLS EP5-A2 приказани су у табели 1.

Табела 1. Резултати прецизности теста

Контрола		Ниво 1	Ниво 2
N		80	80
средња вриједност ($\mu\text{mol/l}$)		106,1	411,5
у серији	SD	0,9	2,7
	% KV	0,76	0,57

Болница Бијељина	Страна 2 од 6	Издање:	Важи од:	МИ-10-029
		2	2023-03-22	

између серија	SD	0,9	3,5
	% KV	0,81	0,80
између дана	SD	5,3	12,4
	% KV	4,83	3,02
укупно	SD	5,3	13,3
	% KV	4,95	3,18

SD-стандардна девијација; %KV-коэффициент варијације

3.6. Тачност

Одступање вриједности креатинина у серуму или плазми је $\leq 10\%$ или $\pm 8,8 \mu\text{mol/L}$, која год вриједност била већа, а укупна грешка је $\leq 22\%$.

3.7. Поређење метода

Резултати добијени одређивањем креатинина у серуму на ARCHITECT cSystem анализатору упоређени су са резултатима добијеним на AEROST System анализатору. Коэффициент корелације између двије методе износи $r=0,9$. Резултати одређивања креатинина у серуму добијени у Creatinine 3L81 тесту успоређени са резултатима добијеним у Creatinine (Enzymatic) 8L24 теста на ARCHITECT cSystem анализатору су 0,9997.

4. ВРСТА УЗОРКА

Врста узорка: За тестирање се могу користити узорци серума, плазме и урина.

Чување узорака: По могућности извршити анализу узорака у што краћем року. Избјежавати вишекратно замрзавање и одмрзавање узорака. Стабилност узорака приказан је у табели 2.

Табела 2. Стабилност узорака

Температура	Максимално вријеме чувања	
	серум/плазма	урин
20 до 25 °C	7 дана	2 дана
2 до 8 °C	7 дана	6 дана
-20 °C	3 мјесеца	6 мјесеци

Транспорт узорка: Узорке до мјеста обраде је потребно доставити у одговарајућем положају и на сталцима, при чему крв не смије да буде у додиру са чепом. Препоручено вријеме доставе до лабораторије је 2 сата од узимања узорка.

5. ПРИПРЕМА ПАЦИЈЕНАТА

Препорука је да се узорак крви узима наше, ујутру најмање 12 сати након последњег оброка, као и да вријеме за вађења крви буде између 7 и 10 h. Дан прије вађења крви треба узимати уобичајне оброке, али не премасне. За вечеру конзумирати лакшу храну. Вечера треба да буде најкасније до 19 h. Послије 19 h може се пити течност, изузев алкохола, кафе и претјерано заслађених напитака. Дан прије узимање крви треба избјежавати интензивну физичка активност. На дан узимања крви, ујутру, не треба ништа јести, пити ни пушити. Уобичајну терапију узети након вађења крви уколико лекар није другачије одредио. Такође, потребно је избјежавати дијететске суплементе и биљне препарате, које лекар није одредио као обавезне, као и интензивну физичку активност, конзумирање алкохолних и енергетских пића, два до три дана прије узимања узорка крви.

6. ВРСТА ПОСУДЕ И АДТИВИ

За узорковање крви се користе пластичне епрувете, односно вакутајнери. За добијање серума користе се епрувете са активатором когулације (црвени чеп). Када се креатинин одређује из плазме узорковање крви се врши у епрувету са литијум/натријум хепарином као антикоагулансом (сиви чеп). 24-часовни урин се сакупља у бочице без конзерванса.

Болница Бијељина	Страна 3 од 6	Издање:	Важи од:	МИ-10-029
		2	2023-03-22	

7. ОПРЕМА И РЕАГЕНСИ

Од опреме и реагенаса за извођење овог теста потребне су: заштитне рукавице, адекватна одјећа, пипета, оригиналне чашице за узорке, реагенс сет и анализатор *ARCHITECT* генерације. Сет реагенаса за одређивање креатинина је у течном облику, спреман за употребу и садржи два реагенса, чије су компоненте приказане у табели 3.

Табела 3. Компоненте реагенса

Реактивне компоненте	Концентрација
R1 натријум хидроксид	0,8 mmol/L
R2 пикринска киселина	24 mmol/L

8. УПРАВЉАЊЕ УСЛОВИМА СРЕДИНЕ И БЕЗБЈЕДНОШЋУ

Обезбјеђивање услова радне средине представља систем мјера и активности за остваривање услова које захтијевају испитивања која се спроводе и прописане су у упутству УП-10-138: *Обезбјеђење и праћење услова средине у процесу испитивања*. У просторији у којој је смјештен апарат, температура је прилагођена условима који су прописани од стране произвођача опреме и захтјевима испитивања. Температура се одржава на вриједностима до 25 ° C, што се евидентира у обрасцу ОБ-10-221: *Евиденција температуре*.

Упутством УП-10-137: *Мјере заштите на раду у Служби за хематолошку и биохемијску дијагностику*, прописују се мјере заштите на раду.

Овај тест захтијева руковање хуманим узорцима. Сваки узорак крви или другог биолошког материјала који се достави у лабораторију је потенцијално је инфективан, па је неопходно да се са овим материјалом крајње пажљиво рукује. То значи да приликом манипулације узорцима и при раду са апаратом треба користити рукавице за једнократну употребу, као и друга заштитна средства.

Реагенс R1, садржи натријум хидроксид, који може узроковати опекотине коже и повреде ока. Реагенс R2 садржи пикринску киселину, која је у сувом стању експлозивна, а када је влажна онда је запаљива. Реагенс се користи у затвореним системима, гдје је контакт оператера са реагенсом сведен на минимум, такође, веома је мала концентрација штетних материја што доприноси мањој изложености. При руковању овим реагенсом и отпадом потребно је предузети мјере предострожности, носити заштитне рукавице, одијело и заштиту за очи. Уколико дође до контакта са реагенсом треба поступити према препорукама произвођача.

9. ПРОЦЕДУРЕ КАЛИБРАЦИЈЕ (МЕТРОЛОШКА СЛЕДЉИВОСТ)

Калибрација се врши методом линеарне регресије, гдје се као калибратори користе *Multiconstituent Calibrator* 1 и 2 и дејонизована вода као нулти калибратор. Калибрација остаје стабилна око 5 дана, а поновна калибрација потребна је након сваке промјене серије реагенса (лот) и ако су контроле изван прихватљивих распона концентрација. Ова метода је стандардизована са референтним материјалом NIST^a SRM^b 965 по референтној методи ID-GC/MS^c-у.

NIST^a –National Institute of Standards and Technology

SRM^b –Standard Reference Material

ID-GC/MS^c –Isotope Dilution-Liquid Chromatography Mass Spectrometry

10. КОРАЦИ ПРОЦЕДУРЕ

1. Провјерава се доступност свих потребних реагенаса за извођење теста.
2. Реагенс сет се поставља у апарат *ARCHITECT cSystem*.
3. Прије анализе узорака, спроводи се интерна контрола квалитета и по потреби калибрација.

Болница Бијељина	Страна 4 од 6	Издање:	Важи од:	МИ-10-029
		2	2023-03-22	

- Узорци се стављају у епрувете или чашице са бар кодовима пацијената на носаче, сталке (*carrier*).
- Након постављања узорка на транспортни модул врши се њихова идентификација скенирањем бар кода, након чега се врше аналитички процеси испитивања узорка.
- При стандардном одређивању креатинина, запремине које се пипетирају и чине реакциону смјесу приказане су дијаграмом.



11. ПРОЦЕДУРЕ КОНТРОЛЕ КВАЛИТЕТА

Контрола квалитета спроводи се примјеном контролних материјала које препоручује произвођач, а то су *Technopath Multichem S Plus* ниво 1, *Technopath Multichem S Plus* ниво 2 и *Technopath Multichem S Plus* ниво 3. Интерна контрола квалитета се спроводи континуирано, сваког дана, прије почетка спровођења рутинских анализа. Такође, контрола квалитета се спроводи при промјени серије реагенса или калибратора (лот). Резултати статистичке обраде при интерној провјери аутоматски се приказују на контролној карти која се креира за сваки параметар посебно, чиме се оцијењује значајност разлике између вриједности која се добија анализирањем контролног материјала и очекиване вриједности за тај материјал. Ако је вриједност контролног узорка унутар двије стандардне девијације метода је под контролом и резултати пацијената се могу издати.

На крају мјесеца се штампају контролне карте за дате параметара. Апарат аутоматски рачуна средњу вриједност и стандардну девијацију, док коефициент варијације (KV%) рачуна одговорни биохемичар и пореди са коефициентом варијације препорученом од стране произвођача, при чему се одређује прецизност методе.

12. ИНТЕРФЕРЕНЦЕ (НА ПРИМЈЕР, ЛИПЕМИЈА, ХЕМОЛИЗА, БИЛИРУБИНЕМИЈА, ЛИЈЕКОВИ) И УНАКРСНЕ РЕАКЦИЈЕ

Критеријум:

Прихватљиви критеријум за интерференцију износи <10% девијације од циљане вриједности.

Иктерус: постоји значајна интерференција за одређивање креатинина при концентрацији билирубина $\geq 1026 \mu\text{mol/L}$ (75%-циљане вриједности)

Хемолиза: нема значајне интерференције за одређивање креатинина при концентрацији хемоглобина 10-20 g/L

Липемија: нема значајне интерференције за одређивање креатинина при концентрацији триглицерида 10-20 g/L

Остало: нема значајне интерференције за одређивање креатинина при концентрацији аскорбата (1,5-3,0 mg/dL), глукозе (16,5-33 mmol/l) и протеина (108-147 g/L).

Болница Бијељина	Страна 5 од 6	Издање:	Важи од:	МИ-10-029
		2	2023-03-22	

13. ПРИНЦИПИ ПРОЦЕДУРЕ ЗА ИЗРАЧУНАВАЊЕ РЕЗУЛТАТА, А КАДА ЈЕ ТО РЕЛЕВАНТНО И МЈЕРНА НЕСИГУРНОСТ ИЗМЈЕРЕНИХ КВАНТИТАТИВНИХ ВРИЈЕДНОСТИ

Принцип одређивања и израчунавања концентрације креатинина се заснива на линеарној регресији, гдје анализатор мјери апсорбације калибратора и генерише калибрациону криву, док при анализи мјери апсорбацију анализата коју анализатор аутоматски преводи у концентрацију.

Мјерна несигурност за креатинин–Multichem S, ниво 1 је $\pm 4,16\%$, а за креатинин–Multichem S, ниво 2 је $\pm 4,88\%$.

14. БИОЛОШКИ РЕФЕРЕНТНИ ИНТЕРВАЛИ И ВРИЈЕДНОСТИ КЛИНИЧКОГ ОДЛУЧИВАЊА

Референтни интервал за креатинин у серуму/плазми наташте, приказан је у табели 4:

Табела 4. Референтни интервал

пол	Распон ($\mu\text{mol/L}$)
одрасли, мушкарци	63,6 до 110,5
одрасли, жене	50,4 до 98,1

15. ИНТЕРВАЛ ИЗВЈЕШТАВАЊА О РЕЗУЛТАТИМА ИСПИТИВАЊА

Резултати мјерења креатинина су у широком распону вриједности и сходно да је линеарност теста у опсегу 17,7 до 3270,8 $\mu\text{mol/L}$, овај распон вриједности представља интервал извјештавања.

16. УПУТСТВА ЗА ОДРЕЂИВАЊА КВАНТИТАТИВНИХ РЕЗУЛТАТА КАДА РЕЗУЛТАТ НИЈЕ У ОКВИРУ ИНТЕРВАЛА МЈЕРЕЊА

Узорци у којима је вриједност креатинина виша од 3270,8 $\mu\text{mol/L}$, треба разблажити ручним поступком разблаживања. Ручно разблаживање узорка се проводи коришћењем физиолошког раствора (0,85 % до 0,90 % NaCl) за разблаживање узорка. Код задавања теста оператер мора уписати фактор разрјеђења узорка, како би се множењем добијеног резултата са унесеним фактором разблажења, добила исправљена концентрација. Када оператер не унесе фактор разблажења, резултат се множи са одговарајућим фактором прије издавања налаза.

Фактор ручног разблажења = (волумен узорка + волумен реагенса за разблажење) / волумен узорка.

17. АЛАРМАНТНЕ/КРИТИЧНЕ ВРИЈЕДНОСТИ, КАДА ЈЕ ОДГОВАРАЈУЋЕ

Алармантне вриједности креатинина за одрасле износе $>654 \mu\text{mol/L}$.

18. КЛИНИЧКО ТУМАЧЕЊЕ ЛАБОРАТОРИЈЕ

За постављање дијагнозе и праћење тока болести, потребно је узети у обзир карактеристике пацијента, тренутну клиничку слику, ранија и тренутна обољења или патолошка стања, терапију коју пацијент прима и др., како би се лабораторијски налаз исправно интерпретирао.

Повишене вриједности: смањена функција бубрега (акутна и хронична обољења бубрега), срчана инсуфицијенција, трауме мускулатуре, акутна мишићна дистрофија, нефротоксични лијекови

Снижене вриједности: нема клинички значај, особе са малом мишићном масом, трудноћа

Болница Бијељина	Страна 6 од 6	Издање:	Важи од:	МИ-10-029
		2	2023-03-22	

19. ПОТЕНЦИЈАЛНИ ИЗВОРИ ВАРИЈАЦИЈА

Билошка варијабилност:

Пол: мушкарци имају више вриједности креатинина

Старост: са старашћу се повећава вриједност креатинина

Гладовање: дуготрајно гладовање доводи до повишене вриједности креатинина

Езогени фактори варијабилности:

- Хипербилирубинемија: код одређивања креатинина *Jaffeovom методом*, лажно негативни резултати настају због оксидације билирубина са алкалијама и стварања безбојних продуката.
- Аскорбинска киселина позитивно интерферира у *Jaffeovoj реакцији*, јер алкални пикрат редукује у пикрамат.
- Неки цефалоспорински антибиотици (цефлотин) лажно повећавају вриједност креатинина у узорку јер реагују с пикратом слично креатинину.
- Услед неадекватног узорковања крви код пацијената који примају инфузиони раствор, може доћи до ефекта дилуције.

20. РЕФЕРЕНЦЕ

1. Creatinine, Упутство произвођача за одређивање глукозе на ARCHITECT cSystems анализаторима-преведен на српском. 2012.
2. Мајкић-Синг Н. (2006). Медицинска биохемија, друго допуњено издање. Друштво медицинских биохемичара Србије, Београд
3. Спасић С., Јелић Ивановић З., Спасојевић-Калимановска В. (2005). Практикум за вјежбе из медицинске биохемије, за студенте Фармацеутског факултета. Фармацеутски факултет, Београд
4. Хоновић Ј. (2013). Зашто нам је важна и како проводити квалитетну пријеаналитичку фазу лабораторијске дијагностике? Гласник пулске болнице, 10 (10), 21-25. Преузето с <https://hrcak.srce.hr/130676>
5. Architect System Operations Manual. Abbott Laboratories, 2013.
6. Ћорић, Ј. (2014). Контрола квалитета рада у лабораторијској медицини. Факултет здравствених студија, Сарајево.
7. Don-Wauchope, A. C., & Chetty, V. T. (2009). Laboratory defined critical value limits: how do hospital physicians perceive laboratory based critical values?. *Clinical biochemistry*, 42(9), 766–770.