



Creatinina

cinética AA

Método cinético para la determinación de creatinina
en suero, plasma u orina

SIGNIFICACION CLINICA

La creatinina, compuesto sumamente difusible, se elimina del organismo casi exclusivamente por filtración renal. Su determinación en suero, así como la depuración de creatinina endógena constituyen parámetros importantes para el diagnóstico de diversas afecciones renales.

FUNDAMENTOS DEL METODO

La creatinina reacciona con el picrato alcalino (reacción de Jaffe) produciendo un cromógeno rojo. La velocidad de esta reacción, bajo condiciones controladas, es una medida de la concentración de creatinina de la muestra puesto que se comporta como una reacción cinética de primer orden para la creatinina. Por otra parte, se ha demostrado que los cromógenos no-creatinina que interfieren en la mayor parte de las técnicas convencionales, reaccionan dentro de los 30 segundos de iniciada la reacción. De manera que entre los 30 segundos y los 5 minutos posteriores al inicio de la reacción, el incremento de color se debe exclusivamente a la creatinina.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución de ácido pícrico 12,7 mmol/l y laurilsulfato de sodio 8,4 mmol/l.

B. Reactivo B: solución de borato 53 mmol/l e hidróxido de sodio 970 mmol/l.

S. Standard*: solución de creatinina 20 mg/l.

REACTIVOS NO PROVISTOS

Calibrador A plus de Wiener lab.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivo A: listo para usar. A baja temperatura puede presentar turbidez o sedimento. En tal caso, colocar en baño de agua a 37°C unos minutos antes de usar.

Reactivo B: listo para usar.

Reactivo de Trabajo: de acuerdo al volumen de trabajo, mezclar cuatro partes de Reactivo A y una parte de Reactivo B. Rotular y fechar. A baja temperatura puede presentar turbidez o sedimento. En tal caso, colocar en baño de agua a 37°C unos minutos antes de usar.

PRECAUCIONES

El kit es para uso diagnóstico "in vitro".

Reactivo B: corrosivo. H315 + H320: Provoca irritación cutánea y ocular. H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. P262: Evitar el contacto con los ojos, la piel o la ropa. P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar cuidadosamente con

agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir enjuagando. P302 + P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: son estables a temperatura ambiente (menor a 25°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Reactivo de Trabajo: premezclado y en envase plástico, es estable una semana a temperatura ambiente. En analizadores automáticos que emplean Reactivo de Trabajo único (premezclado), referirse a las adaptaciones específicas de cada analizador. Evitar la exposición prolongada al aire, manteniendo el frasco bien tapado cuando no sea utilizado.

MUESTRA

Suero, plasma u orina

a) Recolección: el suero o plasma se deben obtener de la manera usual.

Puede emplearse también orina de 2 horas o de 24 horas. Su recolección debe efectuarse en un recipiente perfectamente limpio que se mantendrá en el refrigerador (2-10°C) durante el tiempo de la recolección. Medir la diuresis, tomar una alícuota y efectuar una dilución 1:50 de la misma en agua destilada. En caso de que la diuresis sea de 2 horas, multiplicar el volumen medido por 12 para calcular la cantidad de creatinina eliminada durante 24 horas.

b) Aditivos: en caso de utilizar plasma, recogerlo únicamente con heparina o EDTA.

c) Sustancias interferentes conocidas: cuando la muestra es suero o plasma, no se observan interferencias por hemoglobina hasta 0,78 g/dl (7,8 g/l), triglicéridos hasta 1.700 mg/dl (17 g/l) ni bilirrubina hasta 24 mg/dl (240 mg/l); cuando la muestra es orina, no se observan interferencias por proteínas hasta 500 mg/dl (5 g/l), ácido ascórbico hasta 100 mg/dl (1 g/l) ni cetonas hasta 4 mmol/l.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: el suero o plasma debe ser separado de los glóbulos rojos antes de las dos horas de la extracción. Conservados en refrigerador (2-10°C) su estabilidad es de 3 días.

La orina puede mantenerse hasta 4 días en refrigerador (2-10°C) sin agregado de conservantes.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro capaz de leer a 500 ± 10 nm.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Cubetas espectrofotométricas.
- Baño de agua a 25°C.
- Cronómetro.

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 500 nm
- Temperatura de reacción: 25°C
- El control de la temperatura no es crítico, pudiendo oscilar entre 22 y 28°C. Ver Limitaciones del Procedimiento.
- Volumen de muestra: 0,2 ml
- Volumen de Reactivo de Trabajo: 1,2 ml
- Volumen final de reacción: 1,4 ml

PROCEDIMIENTO

I- TECNICA PARA SUERO O PLASMA

Equilibrar el Reactivo de Trabajo a la temperatura de reacción (25°C). Antes de agregar la muestra, llevar el aparato a cero con agua destilada. En dos cubetas espectrofotométricas marcadas S (Standard) y D (Desconocido), colocar:

	S	D
Reactivo de Trabajo	1,2 ml	1,2 ml
Standard	0,2 ml	-
Muestra	-	0,2 ml

Mezclar inmediatamente, iniciando al mismo tiempo el cronómetro y proseguir la incubación. A los 30 segundos exactos medir la absorbancia (S_1 y D_1) y continuar la incubación. Medir nuevamente la absorbancia (S_2 y D_2) a los 5 minutos (4 minutos 30 segundos después de la primera lectura).

II- TECNICA PARA ORINA

Recolectar y preparar la muestra como se describió en "Recolección", efectuando una dilución 1:50 de la misma en agua desionizada. Aplicar luego la técnica I.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

1) Creatinina en suero (mg/l) = $(D_2 - D_1) \times f$

$$f = \frac{20 \text{ mg/l}}{S_2 - S_1}$$

2) Creatinina en orina (g/24 hs) = $\frac{D_2 - D_1}{S_2 - S_1} \times V$

siendo:

V = volumen de la diuresis expresado en litros/24 hs

La fórmula surge de:

$$\text{Creatinina en orina (g/24 hs)} = \frac{D_2 - D_1}{S_2 - S_1} \times 0,020 \text{ g/l} \times 50 \times V$$

donde:

0,020 g/l = concentración del Standard

50 = factor de dilución

Para expresar la creatinina en orina en "mg/Kg/24 hs":

$$\frac{\text{Creatinina en orina (g/24 hs)} \times 1000 \text{ mg/g}}{\text{Peso del paciente (Kg)}}$$

3) Depuración de Creatinina Endógena (D.C.E.):

$$\text{D.C.E. ml/min} = \frac{\text{Creatinina en orina (g/24 hs)}}{\text{Creatinina en suero (mg/l)}} \times 694 \text{ ml/min}$$

donde:

$$694 \text{ ml/min} = \frac{\text{g/24 hs}}{\text{mg/l}} = \frac{1.000 \text{ mg} \times 1.000 \text{ ml}}{1 \text{ mg} \times 1.440 \text{ min}} = \frac{1.000.000 \text{ ml}}{1.440 \text{ min}}$$

Para expresar D.C.E. en "ml/min/1,73 m²":

$$\frac{\text{D.C.E. (ml/min)} \times 1,73}{\text{Superficie corporal del paciente (m}^2\text{)}}$$

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (Standatrol S-E 2 niveles) con concentraciones conocidas de creatinina, con cada determinación.

VALORES DE REFERENCIA

Suero o plasma:

Hombre: 7 - 13 mg/l

Mujer: 6 - 11 mg/l

Orina:

Hombre: 14 - 26 mg/Kg/24 hs

Mujer: 11 - 20 mg/Kg/24 hs

D.C.E.:

Hombre: 94 - 140 ml/min/1,73 m²

Mujer: 72 - 110 ml/min/1,73 m²

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

Creatinina (mg/l) x 8,84 = Creatinina (umol/l)

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

Otras causas de resultados erróneos son:

- Temperatura: si bien la temperatura de reacción admite una variación entre 22 y 28°C, una diferencia entre la temperatura de incubación del Standard respecto de las muestras disminuye la precisión del método.
- Tiempo de lectura: ligeras variaciones en la medición del tiempo afectan notablemente la exactitud del método. Las lecturas deberán realizarse exactamente a los 30 segundos luego de haber mezclado la muestra con el reactivo y a los 5 minutos (4 minutos 30 segundos luego de la primera lectura).

PERFORMANCE

a) **Reproducibilidad:** procesando de acuerdo al documento

EP15-A del CLSI (ex-NCCLS), se obtuvo lo siguiente:

Precisión intraensayo (n = 20)

	Nivel	D.S.	C.V.
Suero	7,1 mg/l	± 0,27 mg/l	3,8 %
	14,7 mg/l	± 0,32 mg/l	2,2 %
	54,9 mg/l	± 1,09 mg/l	2,0 %
Orina	440 mg/l	± 9,35 mg/l	2,1 %
	2.620 mg/l	± 62,4 mg/l	2,4 %
	5.060 mg/l	± 136 mg/l	2,7 %

Precisión total (n = 20)

	Nivel	D.S.	C.V.
Suero	7,1 mg/l	± 0,30 mg/l	4,3 %
	14,7 mg/l	± 0,48 mg/l	3,3 %
	54,9 mg/l	± 1,47 mg/l	2,7 %
Orina	440 mg/l	± 20,5 mg/l	4,6 %
	2.620 mg/l	± 119 mg/l	4,5 %
	5.060 mg/l	± 177 mg/l	3,5 %

b) Linealidad: la reacción es lineal hasta 90 mg/l de creatinina. Para valores superiores, diluir la muestra 1:2 ó 1:4 con solución salina y repetir la determinación. Corregir los cálculos multiplicando por el factor de dilución empleado.

c) Límite de detección: el mínimo cambio de concentración detectable es 4,5 mg/l.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación debe consultarse el Manual del Usuario del Analizador en uso. Para la calibración, debe usarse **Calibrador A plus** de Wiener lab.

PRESENTACION


- 250 ml (2 x 100 ml Reactivo A + 2 x 25 ml Reactivo B) (Cód. 1260360)
- 200 ml (4 x 40 ml Reactivo A + 2 x 20 ml Reactivo B) (Cód. 1009329)
- 200 ml (4 x 40 ml Reactivo A + 2 x 20 ml Reactivo B) (Cód. 1009254)
- 300 ml (4 x 60 ml Reactivo A + 3 x 20 ml Reactivo B) (Cód. 1009611)
- 100 ml (4 x 20 ml Reactivo A + 2 x 10 ml Reactivo B) (Cód. 1009810)

BIBLIOGRAFIA

- Owen, J.A.; et al. - Biochem. J. 58:426 (1954).
- Henry, R.J. et al. - Clinical Chemistry, Principles and Techniques, 2nd ed., Harper and Row Publishers Inc., N.Y. (1974).
- Butler, A.R. - J. Chem. Soc. (Perkin Trans. II), 853 (1975).
- Labbé, D et al. - Ann. Biol. Clin. 54:285 (1996).
- Burtis, CA; Ashwood, ER - Tietz Fundamentals of Clin. Chem., 5th ed., 2001.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCC Press, 5th ed., 2000.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocol EP15-A, 2001 / EP 17A, 2004.

SIMBOLOS

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.

 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"


 Representante autorizado en la Comunidad Europea

 Uso diagnóstico "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos

 Fecha de caducidad

 Límite de temperatura (conservar a)

 No congelar

 Riesgo biológico

 Volumen después de la reconstitución

 Contenido


 Número de lote

 Elaborado por:

 Nocivo

 Corrosivo / Cáustico

 Irritante

 Consultar instrucciones de uso


 Calibrador

 Control

 Control Positivo

 Control Negativo

 Número de catálogo

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
PM-1102-14

 **Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina