



Creatinina

enzimática AA

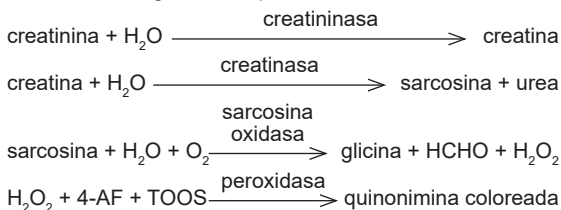
Método enzimático para la determinación de creatinina en suero, plasma u orina

SIGNIFICACION CLINICA

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

FUNDAMENTOS DEL METODO

Basado en el siguiente esquema de reacción:



La intensidad del color de la quinonimina formada es directamente proporcional a la concentración de creatinina en la muestra.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución conteniendo creatinasa 36 kU/l, sarcosina oxidasa 11 kU/l, catalasa 300 kU/l, ascorbato oxidasa 3 kU/l y buffer Goods 20 mmol/l pH 8,2 con N-etil-N-2-hidroxi-3-sulfopropil-3-metilnilina (TOOS) 1 mmol/l.

B. Reactivo B: solución conteniendo 4-aminofenazona (4-AF) 4 mmol/l, creatininasa 370 kU/l, peroxidasa 15 kU/l, azida de sodio 0,8 g/l y buffer Goods 20 mmol/l pH 8,0.

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

REACTIVOS NO PROVISTOS

- Calibrador A plus de Wiener lab.
- Agua desmineralizada.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

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 en refrigerador (2-10°C)

hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No mantener a temperaturas elevadas durante lapsos prolongados.

MUESTRA

Suero, plasma u orina

a) Recolección: obtener suero o plasma 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 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 que la muestra a emplear sea plasma, se recomienda únicamente el uso de heparina como anticoagulante para su obtención.

c) Sustancias interferentes conocidas: no se observan interferencias por ácido ascórbico hasta 100 mg/dl, hemoglobina hasta 400 mg/dl (4 g/l), bilirrubina hasta 28 mg/dl (280 mg/l), ni triglicéridos hasta 1250 mg/dl (12,5 g/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. Si se conserva en la oscuridad a 2-10°C, la 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.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Cubetas espectrofotométricas.
- Baño de agua a 37°C.
- Cronómetro.

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 546 nm
- Temperatura de reacción: 37°C

PROCEDIMIENTO

Antes de agregar la muestra, llevar el aparato a cero con agua destilada. En tres cubetas espectrofotométricas marcadas B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido), colocar:

	B	S	D
Muestra	-	-	0,07 ml
Standard	-	0,07 ml	-
Agua desmineralizada	0,07 ml	-	-
Reactivo A	2,5 ml	2,5 ml	2,5 ml
Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C. Leer la absorbancia a 546 nm (B ₁ , S ₁ y D ₁).			
Reactivo B	1,25 ml	1,25 ml	1,25 ml
Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C. Leer la absorbancia a 546 nm (B ₂ , S ₂ y D ₂).			

CALCULO DE LOS RESULTADOS

$$1) \text{ Creatinina en suero (mg/l)} = [(D_2 - B_2) - (D_1 - B_1) \times k] \times f \times 20 \text{ mg/l}$$

$$f = \frac{20 \text{ mg/l}}{(S_2 - B_2) - (S_1 - B_1) \times k}$$

donde:

$$k = \frac{\text{volumen del Blanco (ml)}}{\text{volumen final (ml)}} = \frac{2,57 \text{ ml}}{3,82 \text{ ml}} = 0,673$$

Significa la compensación por dilución del blanco por agregado del Reactivo B.

Ejemplo:

$$\begin{array}{lll} B_1: 0,123 & S_1: 0,145 & D_1: 0,164 \\ B_2: 0,137 & S_2: 0,365 & D_2: 0,412 \end{array}$$

Standard: 20 mg/l

k = 0,673

$$f = \frac{20 \text{ (mg/l)}}{(0,365 - 0,137) - (0,145 - 0,123) \times 0,673} = \frac{20}{0,228 - 0,022 \times 0,673} = \frac{20}{0,228 - 0,015} = \frac{20}{0,213} = 93,9$$

$$\begin{aligned} \text{Creatinina (mg/l)} &= [(0,412 - 0,137) - (0,164 - 0,123) \times 0,673] \times 93,9 = \\ &= (0,275 - 0,041 \times 0,673) \times 93,9 = (0,275 - 0,028) \times 93,9 = \\ &= 0,247 \times 93,9 = 23,19 \end{aligned}$$

2) Creatinina en orina (g/24 hs) =

$$= \frac{\text{Creatinina (mg/l)} \times 50 \times D}{1000} = \frac{\text{Creatinina (mg/l)} \times D}{20}$$

donde:

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

50 = factor de dilución

1000 = conversión de mg a gramos

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:

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

CALIBRACION

El método ha sido estandarizado frente al material primario de referencia SRM 967-NIST (National Institute of Standards and Technology).

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

Los valores esperados de creatinina son los siguientes:

Suero o plasma

Hombre: 7 - 13 mg/l

Mujer: 6 - 11 mg/l

Orina

Hombre: 0,8 - 2,0 g/24 hs

Mujer: 0,6 - 1,8 g/24 hs

Depuración de Creatinina Endógena

Hombre: 94 - 140 ml/min (promedio 125 ml/min)

Mujer: 72 - 110 ml/min

Es recomendable 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.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: procesando sueros de acuerdo al documento EP5A del CLSI se obtuvo lo siguiente:

Precisión intraensayo (n = 20)

Nivel	D.S.	C.V.
0,98 mg/dl	± 0,014 mg/dl	1,45 %
3,80 mg/dl	± 0,038 mg/dl	0,99 %

Precisión total (n = 20)

Nivel	D.S.	C.V.
0,98 mg/dl	± 0,019 mg/dl	1,99 %
3,80 mg/dl	± 0,044 mg/dl	1,15 %

b) Linealidad: la reacción es lineal hasta 170 mg/l (17 mg/dl) de creatinina. Para valores superiores, diluir la muestra 1:2 ó 1:4 con agua destilada y repetir la determinación. Corregir los cálculos multiplicando por el factor de dilución empleado.

c) Sensibilidad analítica: depende del fotómetro empleado y de la longitud de onda. En espectrofotómetros a 546 nm con cubetas de caras paralelas de 1 cm de espesor, para un ΔA de 0,001 el mínimo cambio de concentración detectable será 1,2 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

30 ml: 1 x 20 ml Reactivo A
1 x 10 ml Reactivo B
(Cód. 1008149)

60 ml: 1 x 40 ml Reactivo A
1 x 20 ml Reactivo B
(Cód. 1260362)

90 ml: 3 x 20 ml Reactivo A
3 x 10 ml Reactivo B
(Cód. 1009612)

BIBLIOGRAFIA

- Fossatti, P.; Prencipe, L.; Berti, G. - Clin. Chem. 29:1494 (1983).
- Curtis, C.A.; Ashwood, E.R. - Tietz Fundamentals of Clin. Chem. 5th Ed.: 422, 2001.
- Burtis, C.A.; Ashwood, E.R. - Tietz Textbook of Clin. Chem. 3rd Ed.:1808, 1996.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocols EP 15A, 2001 / EP 17A, 2004.

SÍMBOLOS

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



Creatinina

enzimática AA

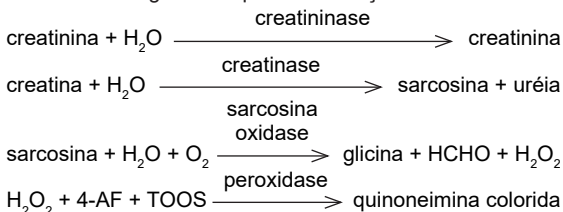
Método enzimático para a determinação de creatinina
em soro, plasma ou urina

SIGNIFICADO CLÍNICO

A creatinina, composto muito difundível, elimina-se do organismo quase exclusivamente por filtração renal. Sua determinação em soro, assim como o clearance de creatinina endógena constituem parâmetros importantes para o diagnóstico de variadas afeções renais.

FUNDAMENTOS DO MÉTODO

Baseado no seguinte esquema de reações:



A intensidade da cor da quinoneimina originada é diretamente proporcional à concentração de creatinina na amostra.

REAGENTES FORNECIDOS

A. Reagente A: solução contendo creatinase 36 kU/l, sarcosina oxidase 11 kU/l, catalase 300 kU/l, ascorbato oxidase 3 kU/l e tampão Goods 20 mmol/l pH 8,2 com N-etil-N-2-hidroxi-3-sulfopropil-3-metilnilina (TOOS) 1 mmol/l.

B. Reagente B: solução contendo 4-aminofenazona (4-AF) 4 mmol/l, creatinase 370 kU/l, peroxidase 15 kU/l, azida de sódio 0,8 g/l e tampão Goods 20 mmol/l pH 8,0.

S. Padrão*: solução de creatinina 20 mg/l.

REAGENTES NÃO FORNECIDOS

- Calibrador A plus da Wiener lab.
- Água desmineralizada.

INSTRUÇÕES PARA USO

Reagentes Fornecidos: prontos para uso.

PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Reagentes Fornecidos: são estáveis em refrigeração (2-10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem.

Não manter a temperaturas elevadas por períodos prolongados.

AMOSTRA

Soro, plasma ou urina

a) Coleta: obter soro ou plasma do modo usual.

Pode-se utilizar também urina de 2 horas ou de 24 horas. Sua coleta deve realizar-se num frasco perfeitamente limpo mantendo-o sob refrigeração (2-10°C) durante a coleta. Medir a diurese, tomar uma alíquota e efetuar uma diluição 1:50 da mesma.

Caso a diurese seja de 2 horas, multiplicar o volume medido por 12 para calcular a quantidade de creatinina eliminada durante 24 horas.

b) Aditivos: caso a amostra a utilizar seja plasma, recomenda-se unicamente o uso de heparina como anticoagulante para sua obtenção.

c) Substâncias interferentes conhecidas: não se observam interferências por ácido ascórbico até 100 mg/dl, hemoglobina até 400 mg/dl (4 g/l), bilirubina até 28 mg/dl (280 mg/l), nem triglicerídeos até 1250 mg/dl (12,5 g/l).

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

d) Estabilidade e instruções de armazenamento: o soro ou plasma deve-se separar dos eritrócitos antes das 2 horas da coleta. Esta amostra é estável 3 dias sob refrigeração (2-10°C) e mantida ao abrigo da luz.

Pode-se manter a urina até 4 dias sob refrigeração (2-10°C) sem conservantes.

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro.
- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.
- Cubetas espectrofotométricas.
- Banho-maria a 37°C.
- Cronômetro.

CONDIÇÕES DE REAÇÃO

- Comprimento de onda: 546 nm
- Temperatura de reação: 37°C

PROCEDIMENTO

Antes de acrescentar a amostra, zerar o aparelho com água destilada. Em três cubetas espectrofotométricas marcadas B (Branco), P (Padrão) e D (Desconhecido), colocar:

	B	P	D
Amostra	-	-	0,07 ml
Padrão	-	0,07 ml	-
Água desmineralizada	0,07 ml	-	-
Reagente A	2,5 ml	2,5 ml	2,5 ml
Misturar e incubar 5 minutos a 37°C. Ler a absorbância a 546 nm (B ₁ , P ₁ e D ₁).			
Reagente B	1,25 ml	1,25 ml	1,25 ml
Misturar e incubar 5 minutos a 37°C. Ler a absorbância a 546 nm (B ₂ , P ₂ e D ₂).			

CÁLCULO DOS RESULTADOS

1) Creatinina em soro (mg/l) = $[(D_2 - B_2) - (D_1 - B_1) \times k] \times f$

$$f = \frac{20 \text{ mg/l}}{(P_2 - B_2) - (P_1 - B_1) \times k}$$

onde:

$$k = \frac{\text{volume do Branco (ml)}}{\text{volume final (ml)}} = \frac{2,57 \text{ ml}}{3,82 \text{ ml}} = 0,673$$

Significa a compensação por diluição do branco por adição do Reagente B.

Exemplo:

B₁: 0,123 P₁: 0,145 D₁: 0,164

B₂: 0,137 P₂: 0,365 D₂: 0,412

Padrão: 20 mg/l

k = 0,673

$$f = \frac{20 \text{ (mg/l)}}{(0,365 - 0,137) - (0,145 - 0,123) \times 0,673} = \frac{20}{0,228 - 0,022 \times 0,673} = \frac{20}{0,228 - 0,015} = \frac{20}{0,213} = 93,9$$

$$\begin{aligned} \text{Creatinina (mg/l)} &= [(0,412 - 0,137) - (0,164 - 0,123) \times 0,673] \times 93,9 = \\ &= (0,275 - 0,041 \times 0,673) \times 93,9 = (0,275 - 0,028) \times 93,9 = \\ &= 0,247 \times 93,9 = 23,19 \end{aligned}$$

2) Creatinina em urina (g/24 hs) =

$$= \frac{\text{Creatinina (mg/l)} \times 50 \times D}{1000} = \frac{\text{Creatinina (mg/l)} \times D}{20}$$

onde:

D = volume da diurese expresso em litros/24 hs

50 = fator de diluição

1000 = conversão de mg a gramas

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

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

onde:

$$694 \text{ ml/min} = \frac{\text{g/24 hs}}{\text{mg/l}} = \frac{1000 \text{ mg} \times 1000 \text{ ml}}{1 \text{ mg} \times 1440 \text{ min}} = \frac{1.000.000 \text{ ml}}{1440 \text{ min}}$$

CALIBRAÇÃO

O método foi padronizado com o material de referência primário SRM 967-NIST (National Institute of Standards and Technology).

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Standatrol S-E 2 níveis**) com concentrações conhecidas de creatinina, com cada determinação.

VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores esperados de creatinina são os seguintes:

Soro ou plasma

Homen: 7 - 13 mg/l

Mulher: 6 - 11 mg/l

Urina

Homen: 0,8 - 2,0 g/24 hs

Mulher: 0,6 - 1,8 g/24 hs

Depuração de Creatinina Endógena

Homen: 94 - 140 ml/min (média 125 ml/min)

Mulher: 72 - 110 ml/min

É recomendável que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

CONVERSÃO DE UNIDADES AO SISTEMA SI

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

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA.

DESEMPENHO

a) Reprodutibilidade: processando soros segundo o documento EP5A do CLSI, obteve-se o seguinte:

Precisão intra-ensaio (n = 20)

Nível	D.P.	C.V.
0,98 mg/dl	± 0,014 mg/dl	1,45 %
3,80 mg/dl	± 0,038 mg/dl	0,99 %

Precisão total (n = 20)

Nível	D.P.	C.V.
0,98 mg/dl	± 0,019 mg/dl	1,99 %
3,80 mg/dl	± 0,044 mg/dl	1,15 %

b) Linearidade: a reação é linear até 170 mg/l (17 mg/dl) de creatinina. Para valores superiores, diluir a amostra 1:2 ou 1:4 com água destilada e repetir a determinação. Corrigir os cálculos multiplicando pelo fator de diluição empregado.

c) **Sensibilidade analítica:** depende do fotômetro empregado e da comprimento de onda. Em espectrofotômetros a 546 nm com cubetas de faces paralelas de 1 cm de espessura, para um ΔA de 0,001 a mudança mínima de concentração detectável será de 1,2 mg/l.

PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Para a programação consultar o Manual do Uso do analisador a ser utilizado.

Para a calibração deve-se utilizar o **Calibrador A plus** da Wiener lab.

APRESENTAÇÃO

30 ml: 1 x 20 ml Reactivo A
1 x 10 ml Reactivo B
(Cód. 1008149)

60 ml: 1 x 40 ml Reagente A
1 x 20 ml Reagente B
(Cód. 1260362)

90 ml: 3 x 20 ml Reagente A
3 x 10 ml Reagente B
(Cód. 1009612)

REFERÊNCIA

- Fossatti, P.; Prencipe, L.; Berti, G. - Clin. Chem. 29:1494 (1983).
- Curtis, C.A.; Ashwood, E.R. - Tietz Fundamentals of Clin. Chem. 5th Ed.: 422, 2001.
- Burtis, C.A.; Ashwood, E.R. - Tietz Textbook of Clin. Chem. 3rd Ed.:1808, 1996.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocols EP 15A, 2001 / EP 17A, 2004.

SÍMBOLOS

Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab.



Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado na Comunidade Europeia



Uso médico-diagnóstico "in vitro"



Conteúdo suficiente para <n> testes



Data de validade



Limite de temperatura (conservar a)



Não congelar



Risco biológico



Volume após a reconstituição



Conteúdo



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caústico



Irritante



Consultar as instruções de uso



Calibrador



Controle



Controle Positivo



Controle Negativo



Número de catálogo



Creatinina

enzimática AA

Enzymatic method for creatinine determination in
serum, plasma or urine

SUMMARY

Creatinine, a highly diffusible compound, is eliminated from the body almost exclusively by renal filtration.

Creatinine measurement in serum as well as the endogenous creatinine clearance are important parameters for the diagnosis of various renal disorders.

PRINCIPLE

Based on the following reaction system:

creatinine + H₂O $\xrightarrow{\text{creatininase}}$ creatine

creatine + H₂O $\xrightarrow{\text{creatinase}}$ sarcosine + urea

sarcosine + H₂O + O₂ $\xrightarrow{\text{sarcosine oxidase}}$ glycine + HCHO + H₂O₂

H₂O₂ + 4-AP + TOOS $\xrightarrow{\text{peroxidase}}$ quinoneimine dye

The intensity of the quinoneimine dye color formed is directly proportional to the creatinine concentration in the sample.

PROVIDED REAGENTS

A. Reagent A: solution containing 36 kU/l creatinase, 11 kU/l sarcosine oxidase, 300 kU/l catalase, 3 kU/l ascorbate oxidase and 20 mmol/l Goods buffer pH 8.2 with 1 mmol/l N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3-methylaniline (TOOS).

B. Reagent B: solution containing 4 mmol/l 4-aminophenazone (4-AP), 370 kU/l creatinase, 15 kU/l peroxidase, 0.8 g/l sodium azide and 20 mmol/l Goods buffer pH 8.0.

S. Standard*: 20 mg/l creatinine solution.

NON-PROVIDED REAGENTS

- Wiener lab.'s **Calibrador A plus**.
- Demineralized water.

INSTRUCTIONS FOR USE

Provided Reagents: ready to use.

WARNINGS

Reagents are for "in vitro" diagnostic use.

Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories.

The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

Provided Reagents: stable in refrigerator (2-10°C) until the expiration date stated on the box. Do not expose at elevated temperatures for extended periods of time.

SAMPLE

Serum, plasma or urine

a) Collection: obtain serum or plasma in the usual way.

Two-hour or 24-hour urine could also be employed. Use a thoroughly cleaned container, which should be refrigerated (2-10°C) during collection. Measure diuresis, take an aliquot and perform a 1:50 dilution. For a 2-hour diuresis, multiply measured volume by 12 to calculate the amount of creatinine eliminated during 24 hours.

b) Additives: in case the sample to be used is plasma, it is recommended the use of heparin as anticoagulant.

c) Known interfering substances: no interference has been observed with ascorbic acid up to 100 mg/l, hemoglobin up to 400 mg/dl (4 g/l), bilirubin up to 28 mg/dl (280 mg/l) and triglycerides up to 1250 mg/dl (12.5 g/l).

See Young, D.S. under References for effect of drugs on the present method.

d) Stability and storage instructions: serum or plasma should be separated from cells within 2 hours after collection. If specimens are stored, protected from light, at 2-10°C, stability is sustained for 3 days.

Urine sample should be stored at 2-10°C for up 4 days without any preservatives.

REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Spectrophotometer.
- Micropipettes or pipettes for measuring the stated volumes.
- Spectrophotometric cuvettes.
- Water bath at 37°C.
- Stopwatch.

ASSAY CONDITIONS

- Wavelength: 546 nm
- Reaction temperature: 37°C

PROCEDURE

Before sample addition, set the instrument to zero O.D. with distilled water. In three spectrophotometric labeled cuvettes B (Blank), S (Standard) and U (Unknown), place as follows:

	B	S	U
Sample	-	-	0.07 ml
Standard	-	0.07 ml	-
Demineralized water	0.07 ml	-	-

Reagent A	2.5 ml	2.5 ml	2.5 ml
Mix and incubate for 5 minutes at 37°C. Measure absorbance at 546 nm (B ₁ , S ₁ , and U ₁).			
Reagent B	1.25 ml	1.25 ml	1.25 ml
Mix and incubate for 5 minutes at 37°C. Measure absorbance at 546 nm (B ₂ , S ₂ , and U ₂).			

CALCULATIONS

$$1) \text{ Creatinine in serum (mg/l)} = [(U_2 - B_2) - (U_1 - B_1) \times k] \times f$$

$$f = \frac{20 \text{ mg/l}}{(S_2 - B_2) - (S_1 - B_1) \times k}$$

where:

$$k = \frac{\text{Blank volume (ml)}}{\text{final volume (ml)}} = \frac{2.57 \text{ ml}}{3.82 \text{ ml}} = 0.673$$

Meaning the compensation by blank dilution by Reagent B addition.

Example:

$$\begin{array}{lll} B_1: 0.123 & S_1: 0.145 & U_1: 0.164 \\ B_2: 0.137 & S_2: 0.365 & U_2: 0.412 \end{array}$$

Standard: 20 mg/l

$$k = 0.673$$

$$f = \frac{20 \text{ (mg/l)}}{(0.365 - 0.137) - (0.145 - 0.123) \times 0.673} = \frac{20}{0.228 - 0.022 \times 0.673}$$

$$= \frac{20}{0.228 - 0.015} = \frac{20}{0.213} = 93.9$$

$$\begin{aligned} \text{Creatinine (mg/l)} &= [(0.412 - 0.137) - (0.164 - 0.123) \times 0.673] \times 93.9 = \\ &= (0.275 - 0.041 \times 0.673) \times 93.9 = (0.275 - 0.028) \times 93.9 = \\ &= 0.247 \times 93.9 = 23.19 \end{aligned}$$

$$2) \text{ Creatinine in urine (g/24 hrs)} =$$

$$= \frac{\text{Creatinine (mg/l)} \times 50 \times U}{1000} = \frac{\text{Creatinine (mg/l)} \times U}{20}$$

where:

U = diuresis volume expressed in liters/24 hrs

50 = dilution factor

1000 = mg conversion to grams

3) Endogenous Creatinine Clearance (E.C.C.):

$$\text{E.C.C. ml/min} = \frac{\text{Creatinine in urine (g/24 hrs)}}{\text{Creatinine in serum (mg/l)}} \times 694 \text{ ml/min}$$

where:

$$694 \text{ ml/min} = \frac{\text{g/24 hrs}}{\text{mg/l}} = \frac{1,000 \text{ mg} \times 1,000 \text{ ml}}{1 \text{ mg} \times 1,440 \text{ min}} = \frac{1,000,000 \text{ ml}}{1,440 \text{ min}}$$

CALIBRATION

The method has been standardized against the SRM 967-NIST (National Institute of Standards and Technology) primary reference material.

QUALITY CONTROL METHOD

Each time the test is running, analyze two levels of a quality control material (**Standatrol S-E 2 niveles**) with known creatinine concentration.

REFERENCE VALUES

Creatinine expected values are the following:

Serum or plasma

Men: 7 - 13 mg/l

Women: 6 - 11 mg/l

Urine

Men: 0.8 - 2.0 g/24 hrs

Women: 0.6 - 1.8 g/24 hrs

Endogenous Creatinine Clearance

Men: 94 - 140 ml/min (125 ml/min average)

Women: 72 - 110 ml/min

It is recommended that each laboratory establishes its own reference values.

SI SYSTEM UNITS CONVERSION

$$\text{Creatinine (mg/l)} \times 8.84 = \text{Creatinine (umol/l)}$$

PROCEDURE LIMITATIONS

See Known Interfering Substances under SAMPLE.

PERFORMANCE

a) **Reproducibility:** following the guidelines contained in CLSI EP5-A document the following results were obtained:

Intra-assay precision (n = 20)

Level	S.D.	C.V.
0.98 mg/dl	± 0.014 mg/dl	1.45 %
3.80 mg/dl	± 0.038 mg/dl	0.99 %

Total precision (n = 20)

Level	S.D.	C.V.
0.98 mg/dl	± 0.019 mg/dl	1.99 %
3.80 mg/dl	± 0.044 mg/dl	1.15 %

b) **Linearity:** reaction is linear up to 170 mg/l (17 mg/dl) of creatinine. For higher values, dilute the sample 1:2 or 1:4 with distilled water and repeat the test. Correct calculations multiplying by the dilution factor used.

c) **Analytical sensitivity:** in spectrophotometer at 546 nm with 1 cm optical length square cuvettes, for a ΔA minimum of 0.001, the minimum detectable concentration change will be of 1.2 mg/l.

PARAMETERS FOR AUTOANALYZERS

For programming instructions check the user's manual of the autoanalyzer in use.

For calibration, it must be used Wiener lab.'s **Calibrador A plus**.

WIENER LAB. PROVIDES

30 ml: 1 x 20 ml Reagent A
1 x 10 ml Reagent B
(Cat. 1008149)

60 ml: 1 x 40 ml Reagent A
1 x 20 ml Reagent B
(Cat. 1260362)

90 ml: 3 x 20 ml Reagent A
3 x 10 ml Reagent B
(Cat. 1009612)

REFERENCES

- Fossatti, P.; Prencipe, L.; Berti, G. - Clin. Chem. 29:1494 (1983).
- Curtis, C.A.; Ashwood, E.R. - Tietz Fundamentals of Clin. Chem. 5th Ed.: 422, 2001.
- Burtis, C.A.; Ashwood, E.R. - Tietz Textbook of Clin. Chem. 3rd Ed.:1808, 1996.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocols EP 15A, 2001 / EP 17A, 2004.

SYMBOLS

The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits.



This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices

 Authorized representative in the European Community

 "In vitro" diagnostic medical device

 Contains sufficient for <n> tests

 Use by

 Temperature limitation (store at)

 Do not freeze

 Biological risks

 Volume after reconstitution

 Contents

 Batch code

 Manufactured by:

 Harmful

 Corrosive / Caustic

 Irritant

 Consult instructions for use

 Calibrator

 Control

 Positive Control

 Negative Control

 Catalog number



Nr kat. 1260362
Nr kat. 1009612
Nr kat. 1008149

LINIA PŁYNNA

Creatinina

enzymática AA

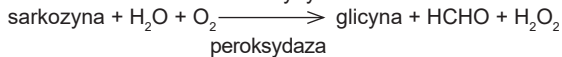
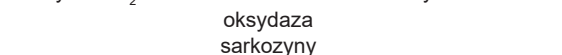
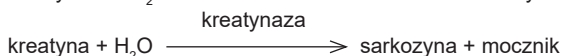
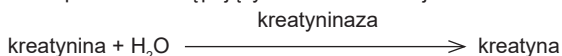
Metoda enzymatyczna do oznaczania poziomu kreatyniny
w surowicy krwi, osoczu lub moczu

WSTĘP

Kreatynina jest substancją wysoce rozpuszczalną i jest eliminowana z organizmu prawie wyłącznie przez filtrację nerkową. Wykrywanie kreatyniny w surowicy krwi jak również oznaczanie endogennego klirensu kreatyniny są ważnymi badaniami w diagnostyce wielu chorób nerek.

ZASADA DZIAŁANIA

Jest oparta na następującym układzie reakcji:



Intensywność koloru barwnika cholinoiminowego jest wprost proporcjonalna do stężenia kreatyniny w próbce.

DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

A. Odczynnik A: roztwór zawierający 36 kU/l kreatynazy, 11 kU/l oksydazy sarkozyny, 300 kU/l katalazy, 3 kU/l oksydazy askorbinowej i 20 mmol/l buforu Good'a pH 8,2 z 1 mmol/l N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3-metyloaniliny (TOOS).

B. Odczynnik B: roztwór zawierający 4 mmol/l 4-aminofenazonu (4-AP), 370 kU/l kreatyninazy, 15 kU/l peroksydazy, 0,8 g/l azydru sodu oraz 20 mmol/l buforu Good'a pH 8,0.

S. Próba wzorcowa*: 20 mg/l roztworu kreatyniny.

NIEDOSTARCZANE ODCZYNNIKI

- Wiener lab.'s Calibrator A plus.
- Woda demineralizowana.

INSTRUKCJA UŻYCIA

Dostarczane odczynniki: gotowe do użycia.

OSTRZEŻENIA

Odczynniki do zastosowania diagnostycznego "in vitro". Stosować odczynniki zgodnie z procedurami dla laboratoriów klinicznych. Odczynniki i materiał badany należy odrzucić zgodnie z lokalnymi przepisami.

TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECCHOWYWANIA

Dostarczone odczynniki: przechowywać w lodówce (2-10°C) do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu. Unikać ekspozycji na wyższe temperatury przez dłuższy okres czasu.

MATERIAŁ BADANY

surowica, osocze lub mocz

a) Pobranie: pobrać surowicę lub osocze w klasyczny sposób. Użyć do badania zbiórkę moczu 2 godziną lub 24 godziną. Użyć całkowicie czystego naczynia, przechowywać mocz w temperaturze 2-10°C podczas zbiórki. Obliczyć diurezę i wziąć podwielokrotność i wykonać rozcieńczenie 1:50 z destylowaną wodą. Dla zbiórki 2 godzinnej należy pomnożyć objętość przez 12 w celu obliczenia wydalania kreatyniny w ciągu 24 godzin.

b) Substancje dodatkowe: w przypadku użycia osocza jako materiału badanego, wskazane jest użycie heparyny jako antykoagulantu.

c) Znane interakcje: nie obserwowano interferencji z kwasem askorbinowym do 100 mg/l, hemoglobina do 400 mg/dl (4 g/l), bilirubina do 28 mg/dl (280 mg/l) i trójglicerydami do 1250 mg/dl (12,5 g/l). Sprawdź źródło: Young, D.S. w sprawie wpływu leków w tej metodzie

d) Trwałość i instrukcja przechowywania: osocze lub surowica powinna zostać oddzielona od komórek w ciągu 2 godzin od pobrania i może być przechowywana zabezpieczona przed światłem, w temperaturze 2-10°C do trzech dni. Próbkę moczu można przechowywać w temperaturze 2-10°C do 4 dni bez konserwowania.

WYMAGANY MATERIAŁ I SPRZĘT (niedostarczany)

- Spektrofotometr.
- Mikropipety i pipety do pomiaru objętości.
- Kuwety spektrofotometryczne.
- Łażnia wodna 37°C.
- Stoper.

WARUNKI DLA PRZEPROWADZENIA TESTU

- Długość fali: 546 nm
- Temperatura reakcji: 37°C

PROCEDURA

Przed dodawaniem materiału ustawić aparat na zero O.D. Na wodzie destylowanej. W trzech kuwetach spektrofotometrycznych oznaczonych B (Ślepa), S (wzorcowa), U (badana) umieścić:

	B	S	U
Materiał badany	-	-	0,07 ml
Próba wzorcowa	-	0,07 ml	-
Woda demineralizowana	0,07 ml	-	-

*Niedostarczane we wszystkich rozmiarach zestawów

Odczynnik A	2,5 ml	2,5 ml	2,5 ml
Wymieszać i inkubować przez 5 minut w temperaturze 37°C. Odczytać absorbancję przy długości fali 546 nm (B_1 , S_1 , i U_1).			
Odczynnik B	1,25 ml	1,25 ml	1,25 ml
Wymieszać i inkubować przez 5 minut w temperaturze 37°C. Odczytać absorbancję przy długości fali 546 nm (B_2 , S_2 , i U_2).			

OBLICZENIA

1) Kreatynina w surowicy (mg/l) = $[(U_2 - B_2) - (U_1 - B_1) \times k] \times f$
20 mg/l

$$f = \frac{20}{(S_2 - B_2) - (S_1 - B_1) \times k}$$

gdzie:

$$k = \frac{\text{Objętość próby ślepej (ml)}}{\text{końcowa objętość (ml)}} = \frac{2,57 \text{ ml}}{3,82 \text{ ml}} = 0,673$$

Uwzględnienie kompensacji roztworu próby ślepej przez dodanie Odczynnika B

Przykład:

B_1 : 0,123 S_1 : 0,145 U_1 : 0,164

B_2 : 0,137 S_2 : 0,365 U_2 : 0,412

Próba wzorcowa: 20 mg/l

$k = 0,673$

$$f = \frac{20 \text{ (mg/l)}}{(0,365 - 0,137) - (0,145 - 0,123) \times 0,673} = \frac{20}{0,228 - 0,022 \times 0,673}$$

$$= \frac{20}{0,228 - 0,015} = \frac{20}{0,213} = 93,9$$

$$\text{Kreatynina (mg/l)} = [(0,412 - 0,137) - (0,164 - 0,123) \times 0,673] \times 93,9$$

$$= (0,275 - 0,041 \times 0,673) \times 93,9 = (0,275 - 0,028) \times 93,9 = 0,247 \times 93,9 = 23,19$$

2) Kreatynina w moczu (g/24 h) =

$$= \frac{\text{Kreatynina (mg/l)} \times 50 \times U}{1000} = \frac{\text{kreatynina (mg/l)} \times U}{20}$$

gdzie:

U = Objętość diurezy wyrażona w litrach/24 godz.

50 = współczynnik rozcieńczenia

1000 = konwersja mg na gramy

3) Endogeny Klirens Kreatyniny (ang. Endogenous Creatinine Clearance E.C.C.):

$$\text{E.C.C. (ml/min)} = \frac{\text{Kreatynina w moczu (g/24 godz.)}}{\text{Kreatynina w surowicy (mg/l)}} \times 694 \text{ ml/min}$$

gdzie:

$$694 \text{ ml/min} = \frac{\text{g/24 godz.}}{\text{mg/l}} = \frac{1000 \text{ mg} \times 1000 \text{ ml}}{1 \text{ mg} \times 1440 \text{ min}} = \frac{1\,000\,000 \text{ ml}}{1440 \text{ min}}$$

METODA KONONTROLI JAKOŚCI

W trakcie przeprowadzania badania, należy przeprowadzić analizę na dwóch poziomach (Standartol S-E 2 niveles) ze znanym stężeniem kreatyniny.

WARTOŚCI REFERENCYJNE

Oczekiwane wartości kreatyniny są następujące:

Osocze lub surowica

Mężczyźni: 7 - 13 mg/l

Kobiety: 6 - 11 mg/l

Mocz

Mężczyźni: 0,8 - 2,0 g/24 godz.

Kobiety: 0,6 - 1,8 g/24 godz.

Endogeny Klirens Kreatyniny

Mężczyźni: 94 - 140 ml/min (125 ml/min średnia)

Kobiety: 72 - 110 ml/min

Zaleca się dla każdego laboratorium ustalenie własnych wartości referencyjnych.

KONWERSJA JEDNOSTEK SI

Kreatynina (mg/l) $\times$ 8,84 = Kreatynina (umol/l)

OGRANICZENIA PROCEDURY

Zobacz ZNANE INTERAKCJE w rozdziale MATERIAŁ.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

a) **Powtarzalność:** zgodnie z wytycznymi zawartymi w dokumencie CLSI EP5-A uzyskano następujące dane:

Precyzja w trakcie badania (n = 20)

Poziom	S.D.	C.V.
0,98 mg/dl	$\pm 0,014$ mg/dl	1,45 %
3,80 mg/dl	$\pm 0,038$ mg/dl	0,99 %

Całkowita precyzja (n = 20)

Poziom	S.D.	C.V.
0,98 mg/dl	$\pm 0,019$ mg/dl	1,99 %
3,80 mg/dl	$\pm 0,044$ mg/dl	1,15 %

b) **Linijność:** reakcja jest liniowa do wartości 170 mg/l (17 mg/dl) kreatyniny. Dla wyższych wartości należy powtórzyć badanie z rozcieńczeniem próbki 1:2 lub 1:4 w roztworze soli fizjologicznej, a następnie w obliczeniach pomnożyć wyniki przez współczynnik rozcieńczenia.

c) **Czułość analityczna:** w spektrofotometrze przy długości pomiaru 546 nm i długości optycznej kuwety 1 cm przy $\Delta A \text{ min.} = 0,001$, najmniejsza wykrywalna różnica stężeń wynosić będzie 1,2 mg/l.

PARAMETRY DLA ANALIZATORÓW AUTOMATYCZNYCH

Celem programowania analizatorów automatycznych należy zapoznać się z podręcznikiem użytkownika zastosowanego aparatu. Do kalibracji należy stosować Wiener lab.'s **Calibrador A plus**.

WIENER LAB. DOSTARCZA

30 ml: 1 x 20 ml Odczynnik A

1 x 10 ml Odczynnik B

(Nr kat. 1008149)

60 ml: 1 x 40 ml Odczynnik A
1 x 20 ml Odczynnik B
(Nr kat. 1260362)

90 ml: 3 x 20 ml Odczynnik A
3 x 10 ml Odczynnik B
(Nr kat. 1009612)

ŹRÓDŁA

- Fossatti, P.; Prencipe, L.; Berti, G. - Clin. Chem. 29:1494 (1983).
- Curtis, C.A.; Ashwood, E.R. - Tietz Fundamentals of Clin. Chem. 5th Ed.: 422, 2001.
- Burtis, C.A.; Ashwood, E.R. - Tietz Textbook of Clin. Chem. 3rd Ed.:1808, 1996.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocols EP 15A, 2001 / EP 17A, 2004.

Oznaczenia

Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.

 Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

 Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej

 Wyrób do diagnostyki "in vitro"

 Zawartość wystarczająca dla <n> badań

 Użyć przed

 Ograniczenie dopuszczalnych temperatur

 Nie zamrażać

 Ryzyko biologiczne

 Objętość po rozpuszczeniu

 Zawartość

 numer serii

 Wytwórca

 Substancja szkodliwa

 Substancja żrąca

 Substancja drażniąca

 Przed użyciem zapoznać się z instrukcją

 Kalibrator

 Próba kontrolna

 Próba kontrolna dodatnia

 Próba kontrolna ujemna

 Numer katalogowy

IVD

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Inscripto M.S.
Cert. N°: 5708/05



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina