



# Creatinina

## directa

Métodos para la determinación de creatinina en suero y 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. Sin embargo, debido a los problemas prácticos inherentes a la determinación del clearance (recolección de orina en niños, etc.), la determinación de creatinina sérica es más utilizada como índice de funcionalismo renal.

### FUNDAMENTOS DEL METODO

La creatinina y otros compuestos de la muestra reaccionan con el ácido pícrico en medio alcalino dando un complejo color rojo que se cuantifica mediante lectura fotométrica.

La determinación de creatinina puede llevarse a cabo por medio de una técnica de punto final, o por una técnica cinética eliminándose en ambas el color que se debe a los cromógenos no creatinina.

En el primer caso, la adición de ácido al medio, destruye el picrato de creatinina pero no el color formado por los demás compuestos. Por lo tanto la diferencia entre la lectura fotométrica antes y después del agregado de ácido, permite cuantificar la creatinina en forma específica.

En la técnica cinética, los cromógenos no creatinina, reaccionan dentro de los primeros 30 segundos de iniciada la reacción, que se comporta como cinética de primer orden para la creatinina. 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 41,4 mmol/l.

**B. Reactivo B:** solución 0,4% de polioxietilén lauril éter (PLE) en buffer alcalino, pH 12,4.

**C. Reactivo C:** ácido acético al 20%.

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

### INSTRUCCIONES PARA SU USO

**Standard:** listo para usar.

**Reactivo A:** listo para usar.

**Reactivo B:** listo para usar. Es posible que a bajas temperaturas se produzca turbidez o algún sedimento. En tal caso, solubilizar totalmente el reactivo dejándolo unos minutos en baño a 37°C antes de pipetearlo.

**Reactivo C:** listo para usar.

**Reactivo de Trabajo:** mezclar en frasco plástico partes iguales de Reactivo A y Reactivo B. Rotular y fechar.

### PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

**Reactivos B y C:** corrosivos. 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:** estables a temperatura ambiente hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

**Reactivo de Trabajo:** a temperatura ambiente y protegido de la luz es estable 15 días a partir de la fecha de su preparación.

### MUESTRA

Suero u orina

**a) Recolección:** obtener suero de la manera usual.

En el caso de orina, obtener orina de 2 horas o de 24 horas empleando un recipiente perfectamente limpio y manteniendo en el refrigerador (2-10°C) durante la recolección. Medir la diuresis, tomar una alícuota y efectuar una dilución 1:50 de la misma. En caso 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:** no se requieren.

**c) Sustancias interferentes conocidas:** sueros con concentraciones de bilirrubina mayores a 50 mg/l producen valores erróneos.

No se observan interferencias por hemólisis ligera o moderada, hiperlipemia, disproteinemia ni cromógenos no-creatinina (tales como glucosa, ácido ascórbico, cetoácidos, glutatión o ergotionina).

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

**d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** la creatinina en suero es estable hasta 24 horas y en orina hasta 4 días, en refrigerador sin agregado de conservadores.

## • TECNICA DE PUNTO FINAL

### MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro o fotocolorímetro
- Micropipetas y pipetas
- Probeta
- Tubos o cubetas espectrofotométricas
- Baño de agua a 37°C
- Reloj o timer

### CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 510 nm en espectrofotómetro o en fotocolorímetro con filtro verde (500-520 nm)
- Temperatura de reacción: 37°C
- Volumen de muestra: 0,1 ml
- Volumen de Reactivo: 1 ml
- Volumen final de reacción: 1,15 ml
- Tiempo de reacción: 15 minutos

### PROCEDIMIENTO

En tres tubos marcados B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido) colocar:

	B	S	D
Agua destilada	0,1 ml	-	-
Standard	-	0,1 ml	-
Muestra	-	-	0,1 ml
Reactivo de Trabajo	1 ml	1 ml	1 ml

Mezclar. Incubar 10 minutos en baño a 37°C. Dentro de los 15 minutos de retirado del baño, leer el Standard (S) y el Desconocido (D<sub>1</sub>) en espectrofotómetro a 510 nm o en fotocolorímetro con filtro verde (500-520 nm) llevando a 0,000 D.O. con el Blanco. Luego agregar:

Reactivo C	50 ul	-	50 ul

Mezclar. Dejar los tubos 5 minutos a temperatura ambiente y volver a leer el Desconocido (D<sub>2</sub>), llevando a 0,000 D.O. con el Blanco.

Los valores de referencia y el Método de Control de Calidad son comunes para ambas técnicas. Ver el punto correspondiente en Técnica Cinética.

### ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL

El color de la reacción es estable durante 6 horas por lo que la lectura debe efectuarse en ese lapso.

### CALCULOS

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

$$f = \frac{20 \text{ mg/l}}{S}$$

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

siendo:

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

La fórmula surge de:

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

donde:

0,020 g/l = concentración del Standard

50 = factor de dilución

### 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:

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

### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Es importante asegurarse de que el mezclado después de agregar cada reactivo sea correcto para evitar errores en los resultados.

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

El uso de plasma proporciona resultados falsamente disminuidos en un 8 a 15%.

### PERFORMANCE

a) **Reproducibilidad:** procesando simultáneamente replicas de una misma muestra se obtienen los siguientes datos:

Nivel	D.S.	C.V.
7,3 mg/l	± 0,18 mg/l	2,4 %
15 mg/l	± 0,26 mg/l	1,7 %

b) **Linealidad:** la reacción es lineal hasta 100 mg/l.

## • TECNICA CINETICA

### MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro o fotocolorímetro
- Micropipetas y pipetas
- Probeta
- Tubos o cubetas espectrofotométricas
- Baño de agua a 25°C
- Reloj o timer

### CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 500 nm en espectrofotómetro o 490-510 nm en fotocolorímetro con filtro verde
- Temperatura de reacción: 25°C
- El control de la temperatura no es crítico, pudiendo oscilar entre 22 y 30°C. Ver Limitaciones del Procedimiento.
- Volumen de muestra: 0,2 ml
- Volumen de Reactivo de Trabajo: 1 ml
- Volumen final de reacción: 1,2 ml
- Tiempo de reacción: 5 minutos

### PROCEDIMIENTO

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 tubos o cubetas espectrofotométricas marcadas S (Standard) y D (Desconocido) colocar:

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

Mezclar inmediatamente, disparando al mismo tiempo el cronómetro y volver a colocar los tubos en el baño. 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).

### CALCULOS

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

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:

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

### VALORES DE REFERENCIA

Suero: 8 - 14 mg/l

Orina: 0,9 - 1,5 g/24 hs

D.C.E.: 80 - 140 ml/min (promedio 125 ml/min) para adultos de hasta 60 años.

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)

### 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.

### 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 30°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 afecta notablemente la exactitud del método. Las lecturas deberán realizarse exactamente a los 30 segundos después de haber mezclado la muestra con el reactivo y a los 5 minutos (4 minutos 30 segundos después de la primera lectura).
- El uso de plasma proporciona resultados falsamente disminuidos en un 8 a 15%.

### PERFORMANCE

a) **Reproducibilidad:** procesando simultáneamente replicas de una misma muestra se obtienen los siguientes datos:

Nivel	D.S.	C.V.
8,6 mg/l	± 0,31 mg/l	3,6 %
20,2 mg/l	± 0,61 mg/l	3,0 %

b) **Recuperación:** agregando cantidades conocidas de creatinina a distintos sueros, se obtuvo una recuperación entre 96 y 101% para niveles de creatinina de hasta 60 mg/l.

c) **Linealidad:** la reacción es lineal hasta 60 mg/l de creatinina. Para valores superiores, diluir la muestra 1:2 ó 1:4 con solución fisiológica y repetir la determinación.

Corregir los cálculos multiplicando por el factor de dilución empleado.

### PRESENTACION

- 240 ml (Cód. 1260551).

### BIBLIOGRAFIA

- Butler, A.R. - J. Chem. Soc. (Perkin Trans. II), 853 (1975).
- Henry, R.J.; Cannon, D.C. & Winkelman, J.K. - Clinical Chemistry - Principles and Technics - Harper & Row, New York - 2ª Ed., pág. 541/53 (1974).
- Martinek, R.G. - J. Amer. Med. Technol. 32/6:700 (1970).
- Owen, J.A.; Iggo, B.; Scandrett, F.J. & Stewart, C.P. - Biochem. J. 58:426 (1954).
- Popper, H.; Mandel, E. & Meyer, H. - Biochem. Z. 291:351 (1937).
- Lorenzo, L.; Demaría, I.; Setta, F.; Taborda, M. - Clin. Chem. 36/6:935, 1992.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4ª ed., 2001.

# 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

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.  
Cert. N°: 4733/02



**Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina