



Creatinina

Método colorimétrico con desproteinización para la determinación de creatinina en suero 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. 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 reacciona con el picrato alcalino en medio tamponado, previa desproteinización con ácido pícrico, obteniéndose un cromógeno que se mide a 510 nm.

REACTIVOS PROVISTOS

- A. Reactivo A:** ácido pícrico 41,4 mmol/l.
- B. Reactivo B:** buffer glicina/NaOH 1 mol/l.
- S. Standard:** solución de creatinina 20 mg/l.

REACTIVOS NO PROVISTOS

Agua destilada.

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.

Reactivo B: 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.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Los Reactivos Provistos son estables a temperatura ambiente hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

MUESTRA

Suero u orina

a) Recolección: obtener suero de la manera usual. Puede emplearse también orina de 2 o de 24 horas. Su recolección debe efectuarse en un recipiente perfectamente limpio mantenido en 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: no se requieren. No se recomienda el uso de plasma pues se obtienen resultados menores en un 8 a un 15%.

c) Sustancias interferentes conocidas: hemólisis ligera a moderada no interfiere, pero no debe emplearse sangre total ya que aproximadamente el 60% del material Jaffe-reactivo de los eritrocitos no es creatinina.

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

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: es conveniente utilizar el suero recién obtenido. Si esto no es posible puede mantenerse hasta 24 horas en refrigerador (2-10°C) sin variaciones de los resultados.

Orinas destinadas a esta determinación pueden mantenerse hasta 4 días en refrigerador (2-10°C) sin agregado de conservantes.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro o fotocolorímetro.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Tubos.
- Reloj o timer.

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 510 nm en espectrofotómetro o en fotocolorímetro con filtro verde (500-540 nm).
- Temperatura de reacción: temperatura ambiente, que no debe exceder los límites de 15 y 30°C.
- Tiempo de reacción: 35 minutos
- Volumen de muestra: 0,7 ml
- Volumen final de reacción: 3,5 ml

PROCEDIMIENTO

En caso de que la muestra a utilizar sea suero, debe efectuarse una desproteinización de la siguiente manera: a 0,7 ml de suero agregar 3,5 ml de Reactivo A. Mezclar por inversión. Dejar reposar 10 minutos y centrifugar a

3000 r.p.m. durante 5 minutos como mínimo.
En tubos marcados B (Blanco), S (Standard), D_s y D_o (Desconocidos suero y orina), colocar:

	B	S	D _s	D _o
Desproteínizado	-	-	3 ml	-
Standard	-	0,5 ml	-	-
Orina diluida (1:50)	-	-	-	0,5 ml
Agua destilada	1 ml	0,5 ml	-	0,5 ml
Reactivo A	2 ml	2 ml	-	2 ml
Reactivo B	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml

Mezclar por inversión. Incubar 20 minutos a temperatura ambiente. Luego leer en espectrofotómetro a 510 nm o en fotocolorímetro con filtro verde (500-540 nm), llevando a cero el aparato con agua destilada.

MICROTECNICA

Si es necesario usar menos cantidad de muestra y el aparato de lectura lo permite, pueden desproteínizarse 0,4 ml de suero con 2 ml de Reactivo A separando 1,5 ml de sobrenadante y adicionando a éste 0,25 ml de Reactivo B. En ambos casos el Standard y Blanco se procesan de la forma habitual.

ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL

El color de la reacción es estable durante 10 minutos por lo que la absorbancia debe ser leída dentro de ese lapso. El Blanco y el Standard pueden leerse hasta los 60 minutos.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Corregir las lecturas S y D restándoles el Blanco (B).

1) **Creatinina en suero (mg/l)** = D_s x f

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

2) **Creatinina en orina (g/24 hs)** = $\frac{D_o}{S} \times V$

siendo:

V = volumen de la diuresis expresado en litros/24 horas.

La fórmula surge de:

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

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:

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

CONVERSION DE UNIDADES

Creatinina (mg/l) = Creatinina (mg/dl) x 10

Creatinina (umol/l) = Creatinina (mg/dl) x 88,4

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Si la muestra a ensayar es suero, procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con concentraciones conocidas de creatinina, con cada determinación. En el caso de muestras de orina, utilizar un control con base de orina.

VALORES DE REFERENCIA

Suero: 8 a 14 mg/l

Orina: 0,9 a 1,5 g/24 horas.

D.C.E.: 80 a 140 ml/min (promedio 125 ml/min)

Estos valores de D.C.E. corresponden a adultos hasta 60 años.

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

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.
- En caso de haberse comprobado la presencia de acetoacetato en la muestra, una vez agregado el Reactivo A (y antes de centrifugar en el caso de suero), colocar en baño de agua a ebullición durante 5 minutos, con lo que se elimina casi totalmente esta interferencia. Enfriar y continuar como se indica en PROCEDIMIENTO.
- Luego de la desproteínización del suero con Reactivo A pueden observarse eventualmente escasas partículas en el sobrenadante, las que no interfieren en la reacción.
- El factor colorimétrico puede utilizarse cuando la reacción se efectúa entre 20 y 25°C. De no ser así debe procesarse simultáneamente un standard con cada lote de determinaciones. De todos modos la temperatura de reacción no debe exceder los límites de 15 y 30°C.

PERFORMANCE

a) **Reproducibilidad:** procesando replicados de las mismas muestras en un mismo día se obtuvieron los siguientes resultados:

Nivel	D.S.	C.V.
7,4 mg/l	± 0,19 mg/l	2,5 %
14,1 mg/l	± 0,25 mg/l	1,7 %

b) **Linealidad:** la reacción es lineal hasta 40 mg/l, en caso de que los resultados superen este valor, deberá diluirse la solución coloreada final 1:2 ó 1:4 con el Blanco de Reactivos, repetir la lectura y multiplicar el resultado por la dilución efectuada.

c) **Recuperación:** agregando cantidades conocidas de creatinina a distintos sueros se obtuvo una recuperación entre 96 y 101%.

d) **Límite de detección:** depende del fotocolorímetro empleado y de la longitud de onda utilizada. En espectrofotómetro con cubetas de caras paralelas de 1 cm de espesor, para un cambio de absorbancia de 0,001 D.O., el mínimo cambio de concentración detectable será de 0,09 mg/l.

PRESENTACION

Kit para 220 determinaciones (Cód.1260001).

BIBLIOGRAFIA

- Biggs, H.G. & Cooper, J.M. - Clin. Chem. 7/6:655 (1961).
- Martinek, R.G. - Amer. Med. Technol. 32/6:700 (1970).
- Searcy, R.L. - Diagnostic Biochemistry, Mc. Graw - Hill Book Co. New York (1969).
- Teger-Nilsson, A.C. - Scand. J. Clin. Lab. Invest. 13:326 (1961).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

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.
Disp. N°: 252/75 - 1211/00

Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina