



CREATININA-S

Números de catálogo: 221-30	Presentación: 2 x 250 mL + 1 x 125 mL + 1 x 15 mL
221-50	1 x 1000 mL + 1 x 250 mL
221-15	8 x 15 mL + 2 x 15 mL

USO

Equipo diagnóstico para la determinación cuantitativa *in vitro* de creatinina en suero y orina.

PRECAUCION

Evitar la ingestión y el contacto con la piel y los ojos. El reactivo base de creatinina es cáustico. Se recomienda usar guantes al manipular este reactivo. Almacenar a 18-26°C.

REACTIVOS

Reactivo Base de Creatinina (R1): solución que contiene 0.25 mol/L de hidróxido de sodio y tensoactivos.

Reactivo de Picrato de Creatinina (R2): solución que contiene 20.5 mmol/L de ácido pícrico.

Estándar de Creatinina: solución que contiene 354 µmol/L (4.0 mg/dL) de creatinina y un conservador (No incluido en el equipo con catálogo No. 221-50).

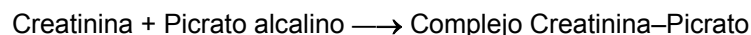
ANTECEDENTES

En 1886, Jaffe desarrolló un análisis para creatinina basado en la reacción entre la creatinina y el picrato de sodio (1). En 1904, Folin (2) utilizó esta reacción para la determinación cuantitativa de creatinina en orina.

Fabing (3) and Soldin (4) propusieron procedimientos cinéticos basados en las velocidades de reacción observadas de diversas sustancia, incluyendo la creatinina, con picrato alcalino. Esta mejora a la reacción química de Jaffe es un procedimiento cinético que no requiere desproteinización de la muestra y es formulada para reducir la interferencia de las proteínas en el suero.

Las determinaciones de creatinina se usan en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades renales, monitoreo de la diálisis renal y como base de cálculo para la determinación de otros analitos en la orina.

PRINCIPIO



A pH alcalino, la creatinina reacciona con el picrato para formar un complejo Janousky. El índice de aumento en absorbancia a 510 nm debido a la formación del complejo creatinina-picrato es directamente proporcional a la concentración de creatinina en la muestra.

PREPARACION DEL REACTIVO

Los reactivos R1 y R2 pueden usarse por separado en dos sistemas de reactivos. Puede prepararse un reactivo de trabajo combinando una parte de reactivo de picrato de creatinina con cuatro partes de reactivo base de creatinina. Mézclelos bien antes de usar.

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO DEL REACTIVO

Los reactivos proporcionados son estables hasta la fecha de caducidad especificada en las etiquetas a una temperatura de 18-26°C. Los reactivos pueden almacenarse en el compartimiento refrigerado de algunos analizadores. El reactivo de trabajo es estable a 18-26°C, o al menos durante 14 días cuando se mantenga a una temperatura de 10-15°C en analizadores con refrigeración.

DETERIORO DEL REACTIVO

Las soluciones de reactivos deben ser claras. Una turbidez indica deterioro. En condiciones de refrigeración < 5°C, puede ocurrir precipitación.

INSTRUMENTOS

Puede usarse cualquier analizador con control de temperatura de $\pm 0.5^\circ\text{C}$ que sea capaz de leer la absorbancia con exactitud, con una sensibilidad de 0.001 de absorbancia a 510 nm. El ancho de banda deberá ser de 10 nm o menos, la desviación de la luz de 0.5% o menos y la exactitud de longitud de onda dentro de 2 nm.

RECOLECCION Y PREPARACION DE LA MUESTRA

Las muestras de elección son suero u orina frescos, claros y no hemolizados. La orina (de 24 hora) debe recolectarse sin aditivos. Para una dilución manual, diluya la orina con solución salina a 0.9% o agua desionizada y multiplique el resultado por el factor de dilución. Para las muestras de orina suele requerirse una predilución de 1 : 10 a 1 : 20. Las muestras pueden almacenarse por tres días a una temperatura de 2-8°C y por períodos más prolongados a una temperatura de - 20 a 0°C.

INTERFERENCIAS

Se evaluaron las interferencias por hemólisis, ictericia y lipemia para este para método de Creatinina-S en un analizador Hitachi 704.

Se analizaron los niveles de hemoglobina de 0-155 $\mu\text{mol/L}$ (0-1000 mg/dL) con resultados aceptables a concentraciones de 116 $\mu\text{mol/L}$ (750 mg/dL). A un nivel de hemoglobina de 116 $\mu\text{mol/L}$ (750 mg/dL) se presentó una interferencia positiva de 6% con una muestra de creatinina de 88 $\mu\text{mol/L}$ (1.0 mg/dL).

Se analizaron los niveles de bilirrubina de 0-684 $\mu\text{mol/L}$ (0-40 mg/dL), obteniendo resultados aceptables a concentraciones de 171 $\mu\text{mol/L}$ (10 mg/dL). A un nivel de bilirrubina de 171 $\mu\text{mol/L}$ (10 mg/dL) se reportó una interferencia negativa de 8% con una muestra de creatinina de 88 $\mu\text{mol/L}$ (1.0 mg/dL).

Se analizaron los niveles de intralípidos de 0-1000 $\mu\text{L/dL}$, obteniendo resultados aceptables a concentraciones de 1000 $\mu\text{L/dL}$ (~3000 mg/dL de triglicéridos).

A niveles de intralípidos de 1000 $\mu\text{L/dL}$ se reportó una interferencia negativa de 3% con una muestra de creatinina de 88 $\mu\text{mol/L}$ (1.0 mg/dL).

Puede encontrar un resumen de la influencia de drogas en las pruebas de laboratorio clínico consultando a Young, D.S. (4).

PROCEDIMIENTO

Materiales Proporcionados

Se incluyen los reactivos necesarios para la determinación de creatinina.

Materiales Requeridos

1. Un analizador que reúna los requisitos mencionados en la sección de analizadores.
2. Cubetas de 1 cm o una celda de flujo capaz de transmitir luz a 510 nm.
3. Tubos de ensayo del tamaño adecuado.
4. Pipetas del tamaño adecuado.
5. Agua desionizada.
6. Un cronómetro adecuado.
7. Solución salina a 0.9% (opcional).

Condiciones

	Genéricas	Analizador Automatizado
Longitud de onda	510 nm	570/505 nm
Temperatura	18-26°C	37°C
Paso de luz	1cm	1 cm
Tipo de reacción	Cinética	Cinética
Tiempo de reacción	0.3-1.3 o 2.3 min	60-140 segundos
Volumen de la muestra	100 µL	15 µL
Volumen de reactivo	2 mL	R1: 290 µL, R2: 70 µL
Volumen total	2.1 mL	0.375 mL
Relación muestra/reactivo	1/20	—

Procedimiento

1. Prepare el volumen requerido de reactivo de trabajo de creatinina.
2. En tubos de ensayo por separado pipetee 100 µL de agua desionizada, del estándar de creatinina, o de la muestra que se desee analizar. Hay que prediluir las muestras de orina en solución salina a 0.9% (favor de referirse a la sección RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA).
3. Agregue 2.0 mL del reactivo de trabajo de creatinina e incube por 20 segundos.
4. Registre la absorbancia del estándar a 510 nm a 20 seg (As1), y a 80 o 140 seg (As2). También registre la absorbancia de cada suero a 510 nm a 20 seg (A1) y a 80 o 140 seg (A2).

CALIBRACION

Los análisis manuales deben calibrarse con cada corrida. La frecuencia de calibración en sistemas automatizados depende del sistema en sí y de los parámetros utilizados. Se incluye un estándar de 354 µmol/L (4.0 mg/dL) en los equipos y se usa conforme a las indicaciones para calibrar el procedimiento. El DC-CAL de DCL (Cat. No. SE-035) también puede usarse para calibrar este procedimiento.

CONTROL DE CALIDAD

Se debe analizar un suero u orina control con nivel normal y anormal en cada serie de muestras y los resultados deberán caer dentro de ± 2 desviaciones estándar del valor establecido.

CALCULO Y RESULTADOS

Resultados

La creatinina en suero se expresa en µmol/L (mg/dL).

La creatinina en orina se expresa en µmol/24 horas (mg/24 horas).

Cálculo

$$\text{Creatinina } \mu\text{mol/L (mg/dL)} = \frac{A_2 - A_1}{As_2 - As_1} \times \text{concentración del estándar}$$

A₂ = absorbancia final de la muestra desconocida (de suero o de orina)

A₁ = absorbancia inicial de la muestra desconocida (de suero o de orina)

As₂ = absorbancia final del estándar

As₁ = absorbancia inicial del estándar

Ejemplo

$$\begin{aligned} \text{Creatinina } \mu\text{mol/L (mg/dL)} &= \frac{0.117 - 0.057}{0.051 - 0.016} \times 354 \\ &= 607 \mu\text{mol/L (6.9 mg/dL)} \end{aligned}$$

0.117 = absorbancia final de la muestra desconocida
0.057 = absorbancia inicial de la muestra desconocida
0.051 = absorbancia final del estándar
0.016 = absorbancia inicial del estándar
354 $\mu\text{mol/L}$ (4.0 mg/dL) = Concentración del estándar

Cálculo de la creatinina en orina/24 horas

Creatinina $\mu\text{mol/L}$ x volumen de orina de 24 horas, en litros = $\mu\text{mol/24 horas}$

Creatinina mg/dL x volumen de orina de 24 horas, en litros x 10 = mg/24 horas

Ejemplo

Creatinina 607 $\mu\text{mol/L}$ x 1.2L = 728 $\mu\text{mol/24 horas}$.

Creatinina 4.0 mg/dL x 1.2 L x 10 = 48 mg/24 horas.

Limitaciones

Una muestra con una absorbancia de 0.193 pudiera indicar un nivel de creatinina que excede el límite de linealidad. Una muestra con un nivel de creatinina que exceda el límite de linealidad deberá diluirse con solución salina a 0.9% y volverse a analizar incorporando el factor de dilución en el cálculo del resultado.

Si la prueba se efectúa a 18-26°C, no permita que las cubetas se incuben en el paso de luz del espectrofotómetro, ya que el aumento de la temperatura afectará de manera importante el resultado.

VALORES ESPERADOS (6)

44-106 $\mu\text{mol/L}$ (0.5-1.2 mg/dL)

Orina de 24 horas:

Hombre: 7072-17680 $\mu\text{mol/24 horas}$ (800-2000 mg/24 horas)

Mujer: 5304-15912 $\mu\text{mol/24 horas}$ (600-1800 mg/24 horas)

Se sugieren estos valores como referencia. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango normal para el área donde está localizado.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Estas características de rendimiento se obtuvieron en los laboratorios de DCL usando procedimientos automatizados a menos que se indique lo contrario.

Estudio de Recuperación

Se añadió creatinina a grupos de sueros frescos para aumentar la concentración de creatinina en 88, 177, 354 y 530 $\mu\text{mol/L}$. La recuperación de la creatinina agregada promedió 97%.

Se añadió creatinina a muestras de orina sencillas y aleatorias para aumentar la concentración de creatinina en 63 y 683 $\mu\text{mol/L}$. La recuperación de la creatinina agregada tuvo un promedio de 98%.

Rango Reportable (NCCLS EP6-P)

El rango reportable depende de la proporción muestra/reactivo utilizada. La linealidad de los procedimientos manual y automatizado descritos es de 1945 $\mu\text{mol/L}$ (22.0 mg/dL). El límite de detección más bajo es de 4 $\mu\text{mol/L}$ (0.1 mg/dL). Estos datos dan por resultado un rango reportable de 4-1945 $\mu\text{mol/L}$ (0.1-22.0 mg/dL).

Estudios de Precisión (NCCLS EP5-T2)

La precisión de un día a otro se estableció analizando dos sueros control y dos orinas control, dos veces al día por 20 días.

Creatinina-S	N	Media		Desviación Estándar		Coeficiente de Variación %
		μmol/L	mg/dL	μmol/L	mg/dL	
Suero 1	40	88	1	2.6	0.03	2.9
Suero 2	40	589	6.7	13.3	0.15	2.3
Orina 1	40	6922	78.3	96.4	1.09	1.4
Orina 2	40	18793	212.6	166.2	1.88	0.9

La precisión dentro de la corrida se estableció analizando dos sueros control y dos orinas control, 20 veces.

Creatinina-S	N	Media		Desviación Estándar		Coeficiente de Variación %
		μmol/L	mg/dL	μmol/L	mg/dL	
Suero 1	20	87	1	1.5	0.02	1.7
Suero 2	20	579	6.5	3.4	0.04	0.6
Orina 1	20	6922	78.3	64.5	0.73	0.9
Orina 2	20	18793	212.6	103.4	1.17	0.5

Exactitud (NCCLS EP9-P)

Se hizo una comparación entre este método y un procedimiento similar de creatinina usando 40 muestras de suero que oscilaron de 62 μmol/L a 1741 μmol/L. El coeficiente de correlación fue de 0.999. El análisis de regresión lineal dio la siguiente ecuación:

$$\text{Este método} = 1.008 (\text{método de comparación}) + 0.27 \mu\text{mol/L.}$$

Se hizo una comparación entre este método para creatinina y otro procedimiento similar utilizando 40 muestras de orina con un rango de 53 μmol/L a 1,335 μmol/L. El coeficiente de correlación fue de 0.9998. El análisis de regresión lineal dio la siguiente ecuación:

$$\text{Este método} = 0.9535 (\text{método de comparación}) + 0.88 \text{ :mol/L.}$$

REFERENCIAS

1. Jaffe, M., Hoppe Selyer's Z. Physiol. Chem. 10, 391-400 (1886).
2. Folin, O., Beitrag zur Chemie des Kreatinins und Kreatins Im Harn. 2. Physiol. Chem. 41, 223-242 (1904).
3. Fabing, D.L., Ertingshausen, G., Automated Reaction Rate Method for the Determination of Serum Creatinine with the Centrifichem, Clin. Chem. 17, 391 (1971).
4. Soldin, S., Henderson, L., Hill, G., The Effect of Bilirubin and Ketones on Reaction Rate Methods for the Measurement of Creatinine, Clin. Biochem. 82-86 (1978).
5. Young, D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, AACC Press, Washington, Third Edition, 1990.
6. Tietz, N.W., Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Company (1986). IN22130-16 May 21, 2002