

## Quantitative determination of creatinine IVD

Store at 2-8 °C

### PRINCIPLE OF THE METHOD

The assay is based on the reaction of creatinine with sodium picrate as described by Jaffé.

Creatinine reacts with alkaline picrate forming a red complex. The time interval chosen for measurements avoids interferences from other serum constituents.

The intensity of the color formed is proportional to the creatinine concentration in the sample<sup>1</sup>.

### CLINICAL SIGNIFICANCE

Creatinine is the result of the degradation of the creatine, component of muscles, it can be transformed into ATP, that a source of high energy for the cells.

The creatinina production depends on the modification of the muscular mass, and it varies little and the levels usually are very stable.

Is excreted by the kidneys. With progressive renal insufficiency there is retention in blood of urea, creatinine and uric acid.

Elevate creatinina level may be indicative of renal insufficiency<sup>1,4,5</sup>.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

### REAGENTS

<b>R 1</b> Picric reagent	Picric acid	8.5 mmol/L
<b>R 2</b> Alkaline reagent	Borate buffer	0.29 mol/L
<b>CREATININE CAL</b>	Creatinine aqueous primary standard 2 mg/dL	

### PRECAUTIONS

R1: Corrosive (C); R35: Causes severe burns.

### PREPARATION

All the reagents are ready to use.

### STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date.

### Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity. RI (Picric acid) may appear turbid or/and precipitate due to its own composition. However, this will not interfere on the results, as disappears by centrifugation (step 4 from the procedure)
- Blank absorbance (A) at 500 nm  $\geq 1.60$ .

### ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 500 nm.
- Matched cuvettes 1.0 cm light path.
- General laboratory equipment.

### SAMPLES

- Serum or heparinized plasma<sup>1</sup>.
  - Urine<sup>1</sup>: Dilute sample 1/50 with distilled water. Mix. Multiply results by 50 (dilution factor);
- Stability of the sample: Creatinine is stable for 7 days at 2-8°C.

### PROCEDURE

- Assay conditions:  
Wavelength: ..... 500 nm  
Cuvette: ..... 1 cm. light path  
Temperature: ..... 15-25°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water.
- Pipette into a cuvette:

	Blank	Standard	Sample
R 1 (mL)	--	4.5	4.5
Standard <sup>(Note 1,2)</sup> (mL)	--	0.5	--
Sample (mL)	--	--	0.5

- Shake each tube during 15 sec. And centrifuge at 2500 r.p.m. during 10 min.

### 5. Pipette :

	Blank	Standard	Sample
R 1 (mL)	2.5	--	--
Supernatant (mL)	--	2.5	2.5
R 2 (mL)	1.0	1.0	1.0

- Mix and incubate 20 min. at room temperature.
- Read the absorbance (A) of the samples and calibrator, against the Blank.

### CALCULATIONS

$$\frac{(A)_{\text{Sample}}}{(A)_{\text{Calibrator}}} \times 2 \text{ (Calibrator conc.)} = \text{mg/dL of creatinine in the sample}$$

**Conversion factor:** mg/dL x 88.4 =  $\mu\text{mol/L}$ .

### QUALITY CONTROL

Serum controls are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagent and calibration for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

### REFERENCE VALUES<sup>1</sup>

Serum or plasma:

Male 0,7 - 1,4 mg/dL  $\cong$  61.8 – 123.7  $\mu\text{mol/L}$

Female 0,6 - 1,1 mg/dL  $\cong$  53.0 – 97.2  $\mu\text{mol/L}$

Urine:

Male 10 - 20 mg/Kg/24 h  $\cong$  88– 177  $\mu\text{mol/Kg/24 h}$

Female 8 – 18 mg/Kg/24 h  $\cong$  71– 177  $\mu\text{mol/Kg/24 h}$

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

**Measuring range:** From detection limit of 0.12 mg/dL to linearity limit of 10 mg/dL.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/2 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 2.

### Precision:

	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
Mean (mg/dL)	0.99	2.97	1.06	2.94
SD	0.04	0.08	0.03	0.05
CV (%)	4.09	2.68	2.89	1.70

**Sensitivity:** 1 mg/dL = 0.07 (A)

**Accuracy:** Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagent (x).

The results obtained using 50 samples was the following:

Correlation coefficient (r): 0,99.

Regression equation  $y = 0,9274x + 0,0937$

The results of the performance characteristics depend on the used analyzer.

### INTERFERENCES

No interferences were observed to hemoglobin up to 1 g/L and bilirubin up to 10 mg/dL<sup>2</sup>.

A list of drugs and other interfering substances with creatinine determination has been reported by Young et. al<sup>2,3</sup>.

### NOTES

- CREATININE CAL: Proceed carefully with this product because due its nature it can get contaminated easily.
- Calibration with the aqueous Standard may cause a systematic error in automatic procedures. In these cases, it is recommended to use a serum Calibrator.
- Use clean disposable pipette tips for its dispensation.
- SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.**

### BIBLIOGRAPHY

- Murray R.L. Creatinine. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1261-1266 and 418.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

### PACKAGING

Ref: K-4001	Cont.	R 1: 1 x 250 mL
		R 2: 1 x 75 mL
		CAL: 1 x 5 mL

# Creatinina

Jaffé. Punto final

## Determinación cuantitativa de creatinina IVD

Conservar a 2-8°C

### PRINCIPIO DEL MÉTODO

El ensayo de la creatinina esta basado en la reacción de la creatinina con el picrato alcalino descrito por Jaffé.

La creatinina reacciona con el picrato alcalino formando un complejo rojizo. El intervalo de tiempo escogido para las lecturas permite eliminar gran parte de las interferencias conocidas del método.

La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de creatinina en la muestra ensayada<sup>1</sup>.

### SIGNIFICADO CLÍNICO

La creatinina es el resultado de la degradación de la creatina, componente de los músculos. Puede ser transformada en ATP, fuente este de energía para las células.

La producción de creatinina depende de la modificación de la masa muscular, varía poco y los niveles suelen ser muy estables.

Se elimina a través del riñón. En una insuficiencia renal progresiva hay una retención en sangre de urea, creatinina y ácido úrico.

Niveles altos de creatinina son indicativos de patología renal<sup>1,4,5</sup>.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

### REACTIVOS

<b>R 1</b>	Reactivo picrico	Ácido picrico	8,5 mmol/L
<b>R 2</b>	Reactivo alcalinizante	Tampón borato	0,29 mol/L
<b>CREATININE CAL</b>	Patrón primario acuoso de Creatinina 2 mg/dL		

### PRECAUCIONES

R1: Corrosivo (C); R35: Provoca quemaduras graves.

### PREPARACIÓN

Todos los reactivos están listos para su uso.

### CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

### Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez. El RI (Ác. Picrico), por su composición, puede aparecer turbio y/o precipitado. Ésto no interfiere en los resultados puesto que desaparece al centrifugar (punto 4 del procedimiento)
- Absorbancia (A) del Blanco a 500 nm  $\geq$  1,60.

### MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 500 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

### MUESTRAS

- Suero o plasma heparinizado<sup>1</sup>.
  - Orina<sup>1</sup>: Diluir la muestra al 1/50 con agua destilada. Mezclar. Multiplicar el resultado obtenido por 50 (factor de dilución)
- Estabilidad de la muestra: La creatinina es estable 7 días a 2-8°C.

### PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:  
Longitud de onda: ..... 500 nm  
Cubeta: ..... 1 cm paso de luz  
Temperatura: ..... 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
R 1 (mL)	--	4,5	4,5
Patrón <sup>(Nota 1,2)</sup> (mL)	--	0,5	--
Muestra (mL)	--	--	0,5

- Mezclar 15 sec. y centrifugar a 2500 r.p.m. durante 10 min.
- Pipetear:

	Blanco	Patrón	Muestra
R 1 (mL)	2,5	--	--
Sobrenadante (mL)	--	2,5	2,5
R 2 (mL)	1,0	1,0	1,0

- Mezclar e incubar 20 min. a temperatura ambiente.
- Leer la absorbancia (A) del calibrador y la muestra, frente al Blanco de reactivo.

### CÁLCULOS

$$\frac{(A)Muestra}{(A)Calibrador} \times 2 \text{ (Conc. Calibrador)} = \text{mg/dL de creatinina en la muestra}$$

Factor de conversión: mg/dL x 88,4 =  $\mu$ mol/L.

### CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

### VALORES DE REFERENCIA<sup>1</sup>

Suero o plasma:

Hombres 0,7 - 1,4 mg/dL  $\cong$  61,8 - 123,7  $\mu$ mol/L

Mujeres 0,6 - 1,1 mg/dL  $\cong$  53,0 - 97,2  $\mu$ mol/L

Orina:

Hombres 10 - 20 mg/Kg/24 h  $\cong$  88 - 177  $\mu$ mol/Kg/24 h

Mujeres 8 - 18 mg/Kg/24 h  $\cong$  71 - 177  $\mu$ mol/Kg/24 h

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

### CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

**Rango de medida:** Desde el límite de detección de 0,12 mg/dL hasta el límite de linealidad de 10 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

### Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (mg/dL)	0,99	2,97	1,06	2,94
SD	0,04	0,08	0,03	0,05
CV (%)	4,09	2,68	2,89	1,70

**Sensibilidad analítica:** 1 mg/dL = 0,07 A.

**Exactitud:** Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,99.

Ecuación de la recta de regresión:  $y = 0,9274x + 0,0937$

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

### INTERFERENCIAS

No se han observado interferencias con hemoglobina hasta 0,1 g/L y bilirrubina hasta 10 mg/dL<sup>1</sup>.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la creatinina<sup>2,3</sup>.

### NOTAS

- CREATININE CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

### BIBLIOGRAFÍA

- Murray R.L. Creatinine. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1261-1266 and 418.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

### PRESENTACIÓN

Ref: K-4001

Cont.	R 1:	1 x 250 mL
	R 2:	1 x 75 mL
	CAL:	1 x 5 mL