

**Quantitative determination of creatinine IVD**

Store at 2-8°C

**PRINCIPLE OF THE METHOD**

In the first reaction, creatinase and sarcosine oxidase were used in the enzymatic hydrolysis of endogenous creatine to produce hydrogen peroxide, that is eliminated by catalase. In the second reaction, the catalase is inhibited by sodium azide, and creatinase and 4-aminoantipyrine (4-AA) were added, and only the creatine generated from creatinine by creatinase was hydrolyzed sequentially by creatinase and sarcosine oxidase to produce hydrogen peroxide. This newly-formed hydrogen peroxide was measured in a coupled reaction catalyzed by peroxidase, with N-ethyl-n-sulphopropyl-mtoluidine (TOPS)/4-AA as a chromogen.

**CLINICAL SIGNIFICANCE**

Creatinine measurements are used in the diagnosis and treatment of renal diseases, in monitoring renal dialysis, and as a calculation basis for measuring other urine analytes. Clinical diagnosis should not be made on the findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

**REAGENTS**

<b>R 1</b>	MOPS 25 mmol/L, TOPS 0.5 mmol/L, Creatinase 10 KU/L, Sarcosine Oxidase 5 KU/L, Catalase 3 KU/L, EDTA 1mmol/L, pH 7,5.
<b>R 2</b>	MOPS 90 mmol/L, Creatinase 30 KU/L, peroxidase KU/L, pH 7,5. Azida sódica 0,5 g/L.
<b>CREATININE CAL</b>	Creatinine aqueous primary standard

**PREPARATION**

R1 and R2 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. R1 and R2 are stable 8 weeks after opening bottle.

**ADDITIONAL EQUIPMENT**

- Spectrophotometer or photometer measuring at 545±20 nm
- Cell holder thermostatable at 37°C
- General laboratory equipment.

**SAMPLES**

- Serum or plasma<sup>1</sup>.
- Urine<sup>1</sup>: Dilute fresh urine 1/50 with distilled water. Creatinine is stable 1 day at 2-8°C.

**PROCEDURE**

- Assay conditions:  
Wavelength: ..... 545 nm (525-565)  
Temperature: ..... 37°C (±0.1°C)
- Bring the reagents and the instrument to 37°C (±0.1°C).
- Pipette into a thermostated cuvette:

	Blank	Calibrator	Sample
R1 (µL)	450	450	450
H2O/Calibrator/Sample (µL)	10	10	10

- Mix and incubate 5 minutes.
- Read the absorbance (A<sub>1</sub>) of the calibrator and the samples, at 545nm against the blank.
- Add:

	Blank	Calibrator	Sample
R2 (µL)	150	150	150

- Mix and incubate 5 minutes.
- Read the absorbance (A<sub>2</sub>) of the calibrator and the samples, at 545nm against the blank.

**CALCULATIONS**

$$\text{Creatinine} = \frac{\Delta A_{\text{Sample}} \times k - \Delta A_{\text{Blank}} \times k}{\Delta A_{\text{Calibrator}} \times k - \Delta A_{\text{Blank}} \times k} \times C$$

$$K = 0.754 = 276 \mu\text{L} / 366 \mu\text{L}$$

C= Concentration of the calibrator

$$\Delta A = A_2 - A_1$$

**QUALITY CONTROL**

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

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and calibrator 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:

Men 0,9 - 1,3 mg/dL

Women 0,6 - 1,1 mg/dL

Urine:

Men 14- 26 mg/Kg/24 h

Women 11-20 mg/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 0.03 mg/dL to linearity limit of 150 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)	SD	CV (%)	
Mean (mg/dL)	0.982	3.776	0.969	3.753
SD	0.030	0.105	0.052	0.150
CV (%)	3.092	2.768	5.048	4.008

**Sensitivity:** 1 mg/dL = ΔA 0,0015 A/min . mg/dL.

**Accuracy:** Results obtained using SPINREACT these reagents did not show systematic differences when compared with other commercial reagents or with HPLC method.

The results obtained using 50 samples were the following:

Correlation coefficient (r): 0.977.

Regression equation: y= -0.093x + 0.945.

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

**INTERFERENCES**

No interferences were observed with hemoglobin until 5 g/dL, bilirubin 40 mg/dL.

Other drugs and substances may interfere<sup>2,3</sup>.

**NOTES**

- Calibration with an aqueous standard may cause matrix related bias, it is recommended to calibrate using a serum based calibrator.
- Urine: Multiply the result by 50 (sample dilution factor).

**BIBLIOGRAPHY**

- Fossati et al. Clin Chem 1983;29:1494-1496.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co.,1999.
- 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.

**PACKAGING**

Ref.: 1001115  
Ref.: 1001117

Cont.

R1: 1 x 30 mL, R2:1 x 10 mL, CAL: 1 x 5 mL  
R1: 1 x 240 mL, R2:1 x 80 mL, CAL: 1 x 5 mL



**Determinación cuantitativa de creatinina IVD**

Conservar a 2-8°C

**PRINCIPIO DEL MÉTODO**

En la primera reacción, se usa creatinasa y sarcosina oxidasa en la hidrólisis enzimática de la creatina endógena para producir peróxido de hidrógeno, el cual es eliminado por catalasa. En la segunda reacción, la catalasa es inhibida por la azida sódica, se añaden creatinasa y 4-aminoantipirina (4-AA), y únicamente la creatina generada a partir de la creatinina por la creatinasa se hidroliza secuencialmente por la creatinasa y sarcosina oxidasa, para producir peróxido de hidrógeno. Este nuevo peróxido de hidrógeno formado se mide en una reacción acoplada catalizada por la peroxidasa, con N-etil-n-sulfopropil-mtoluidina (TOPS)/4-AA como cromógeno.

**SIGNIFICADO CLÍNICO**

Las medidas de creatinina se utilizan en la diagnóstico y tratamiento de enfermedades renales, en la supervisión de diálisis renal, y como base de cálculo para medir otros analitos de la orina. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

**REACTIVOS**

<b>R 1</b>	MOPS 25 mmol/L, TOPS 0.5 mmol/L, Creatinasa 10 KU/L, Sarcosina Oxidasa 5 KU/L, Catalasa 3 KU/L, EDTA 1mmol/L, pH 7,5.
<b>R 2</b>	MOPS 90 mmol/L, Creatinasa 30 KU/L, peroxidasa KU/L, pH 7,5. Azida sódica 0,5 g/L.
<b>CREATININE CAL</b>	Patrón primario acuoso de Creatinina

**PREPARACIÓN**

R1 y R2 están listos para su uso.

**CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD**

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada. R1 y R2 son estables durante 8 semanas después de la apertura del bote.

**MATERIAL ADICIONAL**

- Espectrofotómetro o fotómetro para lecturas a 545±20 nm
- Cubeta termostatizada a 37°C
- 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. Estabilidad de la creatinina: al menos 24 horas a 2-8°C.

**PROCEDIMIENTO**

- Condiciones del ensayo:  
 Longitud de onda: ..... 545 nm (525-565)  
 Temperatura: ..... 37°C (±0.1°C)
- Llevar los reactivos y el instrumento a 37°C (±0.1°C).
- Pipetear en una cubeta termostatizada:

	Blanco	Patrón	Muestra
R1 (µL)	450	450	450
H2O/Calibrador/Muestra (µL)	10	10	10

- Mezclar e incubar durante 5 minutos.
- Leer la absorbancia (A<sub>1</sub>) a 545nm, del calibrador y de las muestras frente al blanco.
- Añadir:

	Blanco	Patrón	Muestra
R2 (µL)	150	150	150

- Mezclar e incubar durante 5 minutos.

- Leer la absorbancia (A<sub>2</sub>) a 545nm, del calibrador y de las muestras frente al blanco.

**CÁLCULOS**

$$\text{Creatinina} = \frac{\Delta A \text{ Muestra} \times k - \Delta A \text{ Blanco} \times k}{\Delta A \text{ Patrón} \times k - \Delta A \text{ Blanco} \times k} \times C$$

$$K = 0.754 = 276 \mu\text{L} / 366 \mu\text{L}$$

C= Concentración del calibrador

$$\Delta A = A_2 - A_1$$

**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 0,9 - 1,3 mg/dL

Mujeres 0,6 - 1,1 mg/dL

Orina:

Hombres 14- 26 mg/Kg/24 h

Mujeres 11-20 mg/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 0,03 mg/dL hasta el límite de linealidad de 150 mg/dL.

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

**Precisión:**

	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
Media (mg/dL)	0.982	3.776	0.969	3.753
SD	0.030	0.105	0.052	0.150
CV (%)	3.092	2.768	5.048	4.008

**Sensibilidad analítica:** 1 mg/dL = ΔA 0,0015 A/min . mg/dL.

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

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,977.

Ecuación de la recta de regresión: y= -0.093x + 0.945.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

**INTERFERENCIAS**

No se observan interferencias con Hemoglobina hasta 5g/L, bilirrubina 40 mg/dL. (1 g/L), Bilirrubina (55 mg/dL), interfiere<sup>1</sup>.

Otras drogas y sustancias pueden interferir en la determinación de la creatinina<sup>2,3</sup>.

**NOTAS**

- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Orina: Multiplicar el factor por 50 (factor de dilución de la muestra).

**BIBLIOGRAFÍA**

- Fossati et al. Clin Chem 1983;29:1494-1496.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co.,1999.
- 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.

**PRESENTACION**

 Ref.: 1001115  
 Ref.: 1001117

Cont.

 R1: 1 x 30 mL, R2:1 x 10 mL, CAL: 1 x 5 mL  
 R1: 1 x 240 mL, R2:1 x 80 mL, CAL: 1 x 5 mL