

CREATININE E

Colorimetric enzymatic method

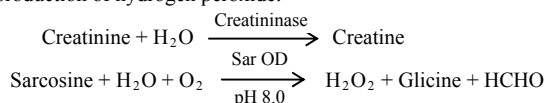
END POINT

REF KR10150 5 x 45 mL CONTENTS R1.Reagent 5 x 30 mL R2.Reagent 5 x 15 mL	REF KR10152 11 x 45 mL CONTENTS R1.Reagent 11x 30 mL R2.Reagent 11x 15 mL
For <i>in vitro</i> diagnostic use only	

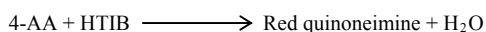
SUMMARY

This procedure¹ is based upon an improved enzymatic method originally devised to evaluate creatinine in serum and urine. The test is performed in two steps.

In the first step creatine is removed during the first minutes of the preincubation stage of the sample with creatinase. In the second step the addition of creatininase, acting also as the reaction starter, hydrolyzes the creatinine of the sample in the presence of sarcosine oxidase (Sar OD) with production of hydrogen peroxide.



The hydrogen peroxide produced from the oxidase reaction is quantified by a Trinder's type reaction in which the chromogenic derivative HTIB* and 4-aminoantipyrine (4-AA) are condensed in the presence of peroxidase (POD) to form a red quinoneimine dye.



The rate of color development is proportional to the concentration of creatinine in the sample.

*Hydroxy-triiodobenzoic acid.

REAGENTS

R1. Chromogen reagent. TAPS buffer 35 mmol/L pH 8.0, creatinase \geq 300 μ kat/L, sarcosine oxidase \geq 100 μ kat/L, ascorbate oxidase \geq 200 μ kat/L, HTIB 2 mmol/L, detergent 0.5 g/L **R:36/37/38.**

R2. Enzyme reagent. TAPS buffer 50 mmol/L pH 8.0, creatininase \geq 400 μ kat/L, peroxidase \geq 15 μ kat/L, 4-amino antipyrine 2 mmol/L, potassium ferrocyanide 0.1 mol/L, detergent 1.5 g/L. **X_i R:36/37/38.**

PREPARATION

The Reagents are ready-to-use.

STORAGE AND STABILITY

Store at 2-8°C. The reagents are stable until the expiry date stated on the label. After daily use stored tightly closed and protected from light. On board the reagents are stable 15 days.

SAMPLE COLLECTION

Serum or heparinized plasma, and urine (see Notes). In serum or plasma is stable up to 24 h at 2-8°C. Freeze for longer storage. In urine is stable up to 4 days at 2-8°C. Freeze for longer storage.

INTERFERENCES

- Bilirubin (>25 mg/dL), hemoglobin (0.5 g/dL), triglycerides (>2.0 g/dL), creatine (>20 mg/dL) and ascorbate (>30 mg/dL) may affect the results.
- A number of drugs are known to affect creatinine levels.²

INSTRUMENTATION AND MATERIALS

- KROMA analyzer.
- Laboratory equipment.

AUTOMATED PROCEDURE

A graphic display pictures the specific sets corresponding to the technical application outlined for this test. Any new application should be validated to confirm that results meet the analytical performance of the method. It is recommended to validate periodically the instrument.

CALIBRATION

Recalibrate weekly, when a new lot of reagent is used, when control recovery falls out of the expected range or when adjustments are made to the instrument.

Two point calibration is recommended (S1: NaCl 9 g/L and S2: Calibrator). A reagent blank should be run daily before analysis.

RESULTS

Samples with concentrations higher than 20 mg/dL should be diluted 1:4 with saline and assayed again. Multiply the results by 4.

If results are to be expressed as SI units apply: mg/dL x 88.4 = μ mol/L

EXPECTED VALUES⁶

Serum, plasma

Men	0.70-1.20 mg/dL (62-106 μ mol/L)
Women	0.50-0.90 mg/dL (44-80 μ mol/L)

Urine

Men	14-26 mg/Kg/24-h (124-230 μ mol/Kg/24-h)
Women	11-20 mg/Kg/24-h (97-117 μ mol/Kg/24-h)

It is recommended that each laboratory establishes its own reference range.

QUALITY CONTROL

To ensure adequate quality control (QC), each run should include a set of controls (normal and abnormal) with assayed values handled as unknowns. Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

DIAGNOSTIC CHARACTERISTICS

Elevated levels of creatinine in serum are usually associated with renal diseases, especially those related to GFR such as glomerular nephritis. Therefore, the clinical significance of the creatinine level in plasma or serum is usually determined in conjugation with the plasma urea level since there is an increase in both levels in postrenal azotemia, while the CC, or urine levels, are diminished.

Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

NOTES

1. Creatinine in urine may be assayed on fresh random samples. No special preparation of the patient is needed. Dilute specimen 1:50 with distilled water before the assay. Multiply the result by 50.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance characteristics are available on request.

BIBLIOGRAPHY

1. Jaffe, M.Z. *Physiol. Chem.* 10 : 391 (1886).
2. Bartels, H., and Böhner, M. *Clin. Chim. Acta.* 32 : 81 (1971).
3. Larsen, K. *Clin. Chim. Acta.* 41 : 209 (1972).
4. Heinegaard, D., and Tindstrom, G. *Clin. Chim. Acta.* 43 : 305 (1973).
5. Young DS. *Effects of drugs on clinical laboratory tests*, 5th ed. AACC Press, 2000.
6. Tietz. N.W. *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 3rd Edition. W.B. Saunders Co. Philadelphia, PA. (1995).

CREATININA E

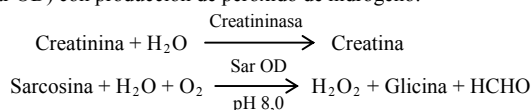
Método cinético colorimétrico

TIEMPO FIJO

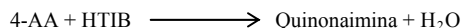
REF KR10150 5 x 45 mL	REF KR10152 11 x 45 mL
CONTENIDO R1.Reactivo 5 x 30 mL R2.Reactivo 5 x 15 mL	CONTENIDO R1.Reactivo 11x 30 mL R2.Reactivo 11x 15 mL
Sólo para uso diagnóstico <i>in vitro</i>	

FUNDAMENTO

Este procedimiento¹ esta basado en un método enzimático mejorado diseñado originalmente para evaluar la creatinina sérica y urinaria. El ensayo se efectúa en dos etapas. En la primera la creatina se elimina durante los primeros minutos de preincubación de la muestra con creatinasa. En la segunda etapa la adición de la creatinasa inicia la reacción hidrolizando la creatinina de la muestra en presencia de sarcosina oxidasa (Sar OD) con producción de peróxido de hidrogeno:



El peróxido de hidrógeno derivado de la reacción oxidásica es cuantificado por una reacción de tipo Trinder en la que el derivado cromogénico HTIB* y la 4-aminoantipirina (4-AA) se condensan en presencia de peroxidasa (POD) para formar un colorante rojo de quinonaimina.



La velocidad de desarrollo de color es proporcional a la concentración de creatinina en la muestra.

*Acido Hidroxi-triido benzoico.

REACTIVOS

R1. Reactivo cromógeno. Tampón TAPS 35 mmol/L pH 8,0, creatinasa ≥ 300 $\mu\text{kat/L}$, sarcosina oxidasa ≥ 100 $\mu\text{kat/L}$, ascorbato oxidasa ≥ 20 $\mu\text{kat/L}$, HTIB 2 mmol/L, detergente 0,5 g/L. **X_i R:36/37/38.**

R2. Reactivo enzimático. Tampón TAPS 50 mmol/L pH 8,0, creatinasa ≥ 400 $\mu\text{kat/L}$, peroxidasa ≥ 15 $\mu\text{kat/L}$, 4-amino antipirina 2 mmol/L, potasio ferrocianuro 0,1 mol/L, detergente 1,5 g/L. **X_i R:36/37/38.**

PREPARACION

Los Reactivos están listos para su uso.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Conservar a 2-8°C. Los Reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Después de su uso diario, mantener bien cerrado y protegido de la luz. En el analizador son estables 15 días.

MUESTRAS

Suero o plasma heparinizado, y orina (ver Notas).

En suero o plasma es estable 24 h a 2-8°C. En muestras de orina es estable 4 días a 2-8°C. Congelar para una conservación más prolongada.

INTERFERENCIAS

- Bilirrubina (>25 mg/dL), hemoglobina (0,5 g/dL), triglicéridos ($>2,0$ g/dL), creatina (>20 mg/dL) y ascorbato (>30 mg/dL) afectan los resultados.

- Se conocen diversas drogas que afectan a esta medición².

EQUIPO ADICIONAL

- Analizador KROMA.
- Material de laboratorio.

TECNICA AUTOMATICA

Una representación grafica visualiza los ajustes específicos correspondientes a la aplicación técnica diseñada para este ensayo. Cualquier aplicación nueva al instrumento deberá validarse para confirmar que los resultados cumplen las características del método. Se recomienda validar periódicamente el instrumento.

CALIBRACION

Recalibrar semanalmente, al cambiar el lote de reactivos, cuando los valores del control estén fuera del rango de aceptación o cuando se realicen ajustes en el instrumento.

Se recomienda la Calibración de dos puntos (M1: ClNa 9 g/L y M2: Calibrador). Realizar un blanco del reactivo cada día de trabajo antes de analizar las muestras.

CALCULOS

Muestras con concentraciones superiores a 20 mg/dL deben diluirse 1:4 con solución salina y repetir el ensayo. Multiplicar los resultados por 4.

Para expresar los resultados en unidades SI : mg/dL x 88,4 = $\mu\text{mol/L}$

VALORES DE REFERENCIA⁶

Suero, plasma

Hombres	0,70-1,20 mg/dL (62-106 $\mu\text{mol/L}$)
Mujeres	0,50-0,90 mg/dL (44-80 $\mu\text{mol/L}$)

Orina

Hombres	14-26 mg/Kg/24-h (124-230 $\mu\text{mol/Kg/24-h}$)
Mujeres	11-20 mg/Kg/24-h (97-117 $\mu\text{mol/Kg/24-h}$)

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de referencia.

CONTROL DE CALIDAD

Para un control de calidad (CC) adecuado, se incluirán en cada serie controles valorados (normal y abnormal) que se tratarán como muestras problema.

Cada laboratorio debe establecer su propio Control de Calidad y sus medidas correctoras cuando los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

SIGNIFICADO CLINICO

Los niveles elevados de creatinina sérica estan por lo general asociados a trastornos renales, especialmente los relacionados con la velocidad de filtración glomerular como en el caso de las nefritis glomerulares. Como consecuencia el significado clínico del nivel de creatinina en suero o plasma se mide conjuntamente con el nivel de urea plasmática, al presentarse un aumento de ambos en la azotemia postrenal y una disminución conjunta en orina.

NOTAS

1. La creatinina urinaria puede ensayarse en muestras aleatorias recientes, no precisándose una preparación especial del paciente. Diluir la muestra 1:50 con agua destilada antes del ensayo. Multiplicar el resultado por 50.

CARACTERISTICAS ANALITICAS

Las características analíticas están disponibles bajo solicitud.

REFERENCIAS

1. Jaffe, M.Z. *Physiol. Chem.* 10 : 391 (1886).
2. Bartels, H., y Böhrner, M. *Clin. Chim. Acta.* 32 : 81 (1971).
3. Larsen, K. *Clin. Chim. Acta.* 41 : 209 (1972).
4. Heinegaard, D., y Tindstrom, G. *Clin. Chim. Acta.* 43 : 305 (1973).
5. Young DS. *Effects of drugs on clinical laboratory tests*, 5th ed. AACC Press, 2000.
6. Tietz, N.W. *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 3rd Edition. W.B. Saunders Co. Philadelphia, PA. (1995).

CREATININE E

Two reagents method

Creatinine (5 x 45 mL), Code KR10150
Creatinine (11 x 45 mL), Code KR10152

USO
USE

Reactivo de diagnóstico *in vitro* para la determinación de creatinina en suero, plasma u orina.
In vitro diagnostic reagent for the determination of creatinine in serum, plasma or urine.

METODO
METHOD

Enzimático colorimétrico
Colorimetric enzymatic

MUESTRA
SAMPLE

Suero, plasma heparinizado y orina.
Serum, heparinized plasma and urine.

REACTIVOS
REAGENTS

NOTA/NOTE:
Reactivo 1 : Usar Reactivo cromógeno (R1)
Reactivo 2 : Usar Reactivo enzimático (R2)
Reagent 1 : Use Chromogen reagent (R1)
Reagent 2 : Use Enzyme reagent. (R2)
Los reactivos R1 y R2 están listos para su uso.
The reagents R1 and R2 are ready to use.

CALIBRADOR
STANDARD

Linear Multicalibrador CC/H, Code CT19750

CONTROL CALIDAD
QUALITY CONTROL

Linear Human Multisera Normal CT19800
Linear Human Multisera Abnormal CT19850

DETERMINACIONES
NUMBER OF TESTS

600 tests/kit, Code KR10150
1320 tests/kit, Code KR10152
(no se considera el volumen muerto).
(dead volume is not taken in consideration).

LINEALIDAD
LINEARITY

Sin post-dilución automática: Hasta 20 mg/dL
Without automatic post-dilution: Up to 20 mg/dL

NOTA
NOTE

Para más información lea el prospecto del reactivo.
For additional information read reagent packaging insert.

NOTA DE AVISO
WARNING

La aplicación incluida se da solamente como pauta. Cualquier aplicación deberá ser validada con el fin de demostrar que se cumplen las características analíticas del método.
The reported application is given only as a guideline. Any application to an instrument should be validated to demonstrate that results meet the performance characteristics of the method.

General Info

Name: CREAT.ENZIMATICA Code: CREZ Barcode: [] Unit: mg/dl Decimal digits: 2

Visible: Type: Endpoint [] Na+ [] No. of rgt: 2 [] Multiply diluted result: []

Notes: []

Filters

F1: 546nm [] F2: not used []

Volumes [microlitres]

Sample: 5

R1: 250 [] R1 Bottle sizes: 30 ml []

R2: 125 [] R2 Bottle sizes: 20 ml []

R3: 0 [] R3 Bottle sizes: 20 ml []

Reagents

Include blank in calc.

Blank Abs (min; max): 0 [] 0 []

Reagent linearity: 20 []

Detection limit: 0 []

Incubation/Reading time [sec]

Substrate/Sample Start: []

R1,5 -> R2: 300 [] R1,R2,5 -> R3: 36 [] Final incub.: 300 []

Reference Ranges

Sample type: Serum []

Patient...	Min	Max
Female	0.00	0.00
Male	0.00	0.00
Paediatric	0.00	0.00

Instrument Factor (Y = aX + b)

a: 1.000 [] b: 0.000 []

Controls

C1 C2 C3

Calibrations

No. of Standards: 2 []

Piecewise Linear [] Calib. Curve []

Formula Builder [] Print [] Delete [] Save []

Name	N. of Standards	N. of rep.	Units	Stability
Creatinine E	2	1	mg/dL	

Dil.ratio	Std value	O.D.	Reagent ...
[]	*	[]	[]

Factor	Factor Min	Factor Max
[]	[]	[]

* entered by the user

KR10150-52-1/1001