

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, which 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 creatininase 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

R 1	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.
R 2	MOPS 90 mmol/L, Creatininase 30 KU/L, peroxidase 10 KU/L, pH 7,5. Azida sódica 0,5 g/L.

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

- Autoanalyzer Spintech 240.
- General laboratory equipment.

SAMPLES

- Serum or plasma¹.
- Urine (24 h)¹: Dilute fresh urine 1/50 with disitlled water.
Multiply the result by 50 (sample dilution factor).
Creatinine is stable 1 day at 2-8°C.

REFERENCE VALUES¹

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.

QUALITY CONTROL

Control sera and calibrators are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINTROL H Calibrator, SPINTROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002011, 1002120 and 1002210).

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

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

APPLICATION SPINTECH 240

Item Name CREA			
DATA INFORMATION			
Units	mg/dL		
Decimals	2		
ANALYSIS			
Type	END		
W.Length 1	546		
Method	Trinder		
CORR			
SLOPE	INTER		
1.000 x +	0		
Item Name CREA			
ASPIRATION		DATA PROCESS	
KIND	Single <input type="checkbox"/> Double <input checked="" type="checkbox"/>	ABSORBANCE LIMIT	
		READ	LOW -3.000
		START	END
		MAIN 50	52
		SUB 35	37
		ENDPOINT LIMIT 3	
		LINEAR CHECK (%)	
		FACTOR	
		Blank Correction 1.000	
		PROZONE CHECK	
		START	END
		LIMIT (%)	
		FIRST	
		SECOND	<input checked="" type="checkbox"/> Low High
		THIRD	<input checked="" type="checkbox"/> Low High

Blank parameter must be performed in order to get good results in CALIB screen from main menu. This parameter calibration is stable for more than 40 days.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: From detection limit of 0,00 mg/dL to linearity limit of 180 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)	0,87	3,82	0,87	3,75
SD	0,01	0,06	0,02	0,06
CV (%)	1,63	1,44	2,31	1,72

Sensitivity: 1 mg/dL = 0,0226 (ΔA)

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)²: 0,9730

Regression equation: y = 1,066x - 0,020.

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

NOTES

1. Calibration with an aqueous standard may cause matrix related bias, it is recommended to calibrate using a serum based calibrator.

BIBLIOGRAPHY

1. Fossati et al. Clin Chem 1983;29:1494-1496.
2. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co.,1999.
3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.

PACKAGING

Ref.: TK1001117	Cont.	R1: 10 x 24 mL R2: 10 x 8 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

R 1	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.
R 2	MOPS 90 mmol/L, Creatinasa 30 KU/L, peroxidasa 10 KU/L, pH 7,5. Azida sódica 0,5 g/L.

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

- Autoanalizados Spintech 240.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

- Suero o plasma heparinizado¹.
- Orina (24 h)¹: Diluir la muestra al 1/50 con agua destilada. Multiplicar el factor por 50 (factor de dilución de la muestra). Estabilidad de la creatinina: al menos 24 horas a 2-8°C.

VALORES DE REFERENCIA¹

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.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente calibrar y analizar junto con las muestras sueros control y calibradores valorados: SPINTROL H Calibrador, SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002011, 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.

APLICACIÓN AL SPINTECH 240

Item Name CREA		CALIBRATION	
<u>DATA INFORMATION</u>		TYPE Linear	
Units	mg/dL		
Decimals	2		
<u>ANALYSIS</u>		STANDARD	
Type	END	#1	* #4
W.Length 1	546	#2	#5
		#3	#6
Method Trinder		<u>NORMAL RANGE</u>	
		SERUM	MALE HIGH
			FEMALE
<u>CORR</u>			
SLOPE	INTER		
1.000 x +	0		
Item Name CREA		<u>DATA PROCESS</u>	
<u>ASPIRATION</u>		<u>ABSORBANCE LIMIT</u>	
KIND	Single <input type="checkbox"/> Double <input checked="" type="checkbox"/>	READ	LOW -3.000
		START	HIGH 3.000
		END	
		MAIN	50 52
		SUB	35 37
		ENDPOINT LIMIT 3	
		LINEAR CHECK (%)	
		<u>FACTOR</u>	
		Blank Correction	1.000
<u>MONITOR</u>		<u>PROZONE CHECK</u>	
0 LEVEL POINT	1	START	END LIMIT (%)
SPAN	3.000	FIRST	
		SECOND	<input checked="" type="checkbox"/> Low High
		THIRD	<input checked="" type="checkbox"/> Low High

Es necesario solicitar el blanco en este parámetro para obtener resultados correctos en la pantalla principal de CALIB. La Calibración de este parámetro es estable más de 40 días.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,00 mg/dL hasta el límite de linealidad de 180 mg/dL.

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

Precisión:

	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
	Media (mg/dL)	0,87	3,82	0,87
SD	0,01	0,06	0,02	0,06
CV (%)	1,63	1,44	2,31	1,72

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,0226 (ΔA)

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)²: 0,9730.

Ecuación de la recta de regresión: y= 1,066x - 0,020.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

NOTAS

1. La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Fossati et al. Clin Chem 1983;29:1494-1496.
2. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co.,1999.
3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.

PRESENTACION

Ref.: TK1001117 Cont. R1: 10 x 24 mL
R2: 10 x 8 mL