

REACTIVO PARA CREATININA (CS)

USO:

Para la determinación cuantitativa de creatinina en suero. Solamente para uso diagnostico *in vitro*.

SIGNIFICADO CLINICO:

Los ensayos de Creatinina son comúnmente realizados como ayuda en determinaciones de funciones renales.

HISTORIA DEL METODO:

En 1886 Jaffe¹ describió un método para la determinación de creatinina que comprendia un filtrado libre de proteínas y una reacción con ácido picrico en solución alcalina. Aunque se han descrito bastantes métodos desde entonces, la reacción clasica de Jaffe es ampliamente usada. En esta reacción hacen interferencias varias sustancias, incluyendo proteínas y glucosa ^{2,3,4}.

Se han hecho modificaciones al procedimiento para combatir las desventajas⁵. Los procedimientos cinéticos se han hecho populares por que son rápidos, simples y evitan interferencias, este metodo se basa en una modificación del procedimiento señalado anteriormente incorporado un surfactante y otros ingredientes para minimizar la interferencia de proteínas y los carbohidratos.

PRINCIPIO:

Error! Bookmark not defined.

La Creatinina reacciona con el ácido de pícrico en condiciones alcalinas para formar un complejo de color que absorbe a 510 nm. La velocidad de la formación del color es proporcional a la creatinina en la muestra.

REACTIVOS:

Reactivo de Creatinina (R1): Buffer Alcalino Reactivo de Creatinina (R2): Acido Pícrico 40mM (Surfactante)

PREPARACION DEL REACTIVO:

Los reactivos estan listos para su uso para la mayoría de los sistemas automatizados. Si es necesario preparar reactivo de trabajo para técnicas manuales o equipos semi-automatizados es necesario combinar 5 volumenes de (R1) con 1 volumen de (R2). Mezcle y continuar con las instrucciones del equipo.

ALMACEN DEL REACTIVO:

1.- Ambos reactivos se almacenan a temperatura ambiente.

2.- El reactivo de trabajo (ya preparado) es estable por mas de un mes a temperatura ambiente si es cerrado herméticamente.

DETERIORO DEL REACTIVO: NO USE SI:

- 1.- El reactivo está contaminado.
- 2.- Si no da los valores asignados con un suero de control fresco.

PRECAUCIONES:

- 1.- Para diagnóstico "In Vitro" solamente.
- 2.- El Acido Pícrico es un agente altamente oxidante, evite el contacto con la piel. Limpie cualquier derrame ya que el vapor del ácido pícrico es explosivo.

COLECCION Y ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA:

- 1.- Se recomienda suero.
- 2.- La Creatinina en suero es estable por 24 horas a temperatura refrigerada 2-8°C y por varios meses en congelamiento a (-20°C) previamente protegidos de evaporaciones o contaminaciones.
- 3.- Los especímenes de orina de 24 hrs. deben preservarse con 15 gramos de Acido Bórico.
- 4.- La muestra collectada podría ser transportada de acuerdo con las normas NCCLS M29T2.⁷ . Ningun método puede ofrecer seguridad al transportar muestras de sangre humana infectadas. Todas las muestras de sangre humana tienen que ser consideradas potencialmente infecciosas

INTERFERENCIAS:

Un número de sustancias afectan la presición de la determinación de la creatinina. Ver Young, et al.⁸

MATERIALES INCLUIDOS:

- 1.- Reactivo de Creatinina R1
- 2.- Reactivo de Creatinina R2

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVEIDOS:

- 1.-Instrumentos de pipeteo
- 2.- Reloj
- 3.- Tubos de ensaye y gradilla
- 4.- Espectrofotómetro con temperatura controlada en la celda de reacción.
- 5.- Termoblock (37 °C)

PROCEDIMIENTO AUTOMATIZADO:

Vea las aplicaciones especificas del instrumento.

Longitud de Onda: 510 nm

Tipo de Ensayo: Cinética(Lectura Inicial)

Muestra/Reactivo 1:20 Dirección de la Reacción: Incrementos Temperatura: 37 °C
Intervalo de Tiempo: 60 seg.
Tiempo de Lectura(2ª.) 60 seg.
Valor normal bajo: 0.40
Valor normal alto: 1.40

Las aplicaciones y parámetros para equipos automatizados estan disponibles. Favor de contactar con su agente para informaciones específicas.

PROCEDIMIENTO MANUAL:

- 1.- Prepare el reactivo de trabajo de acuerdo a las instrucciones.
- 2.- Programe la temperatura de la cuveta a 37° C.
- 3.- Pipetee 1.0 ml. de reactivo de trabajo en cada uno de los tubos
- 4.- Ponga en cero el espectrofotómetro con el blanco de reactivo a 510 nm.
- 5.- Agregue 0.05 ml (50 ul) de muestra al reactivo, mezcle e inmediatmente pongalo en la cuveta.
- 6.- Después de 60 segundos exactamente lea y anote la absorbancia (A1).
- 7.- Despues de 60 segundos de A1 lea otra vez y anote A2, el tiempo de A1 y A2 es 60 segundos.
- 8.- Calcule ΔABS/MIN = A2-A1 Ver Cálculos.

NOTA:

Si el espectro requiere de muestras mayores de 1.0 ml. use 0.20 ml. (200 ul) de muestra y 3.0 ml. de reactivo.

LIMITANTES:

Muestras con valores arriba de 25 mg/dl tienen que ser diluidas 1:1 . Se vuelven a procesar y el resultado se multiplica por 2.

CALIBRACION:

Use un estandar acuoso Creatinina (5 mg dl) o un suero calibrador apropiado. El procedimiento debe ser calibrado de acuerdo a las instrucciones del instrumento. Si el resultado de los controles estan fuera de rango, el procedimiento tiene que repetirse y recalibrar.

CALCULOS:

El valor de la creatinina desconocido es calculado comparando su cambio de absorbancia con el de un estandar conocido.

$$mg / dl = \frac{\Delta ABS(desconocido)}{\Delta ABS(Es \tan dard)} \times Conc.de estandard(mg / dl)$$

DONDE:

 $\Delta Abs. = Diferencia de Absorbancia(A2 - A1)$

EJEMPLO:

 $\Delta Abs.desconocida. = 0.01$

 $\Delta Abs.es \tan dard. = 0.05$

Conc.deEs an dard = 5mg dl

$$\frac{0.01}{0.05} \times 5 = 1.0 mg / dl$$

La reaccion debe de ser monitoreada con el uso de sueros controles Nivel I (Normal) y Nivel II (Anormal) con valores conocidos. Se recomienda que los sueros controles se corran cada vez que procesen muestras esta frecuencia del uso de controles la va a determinar cada laboratorio.

VALORES ESPERADOS:

0.04 - 1.40 mg /dl

Es muy recomendable que cada laboratorio establezca sus propios rangos de referencia.

DESEMPEÑO:

- 1.- Linearidad: 0.1 25 mg/dl
- 2.- Correlación: Un estudio realizado con 126 muestras sobre el rango de 0.4 a 11.3 mg/dl, dio un coeficiente de correlación de 0.998 (y=1.09 x + 0.02, r^2 = 0.998) y una S.E. = 0.22
- 3.- Precisión: Estudios de precision fueron realizados siguiendo una modificación a los lineamientos que están en los documentos de NCCLS EP5-T2.9

Entre pruebas del Día

Conoc.	D.E.	C.V.%
1.4	0.03	2.2
7.1	0.09	1.3
Día a Dí	a	
Conoc.	D.E.	C.V.%
1.4	0.05	3.6
7.0	1.10	1.6

REFERENCIAS:

- 1.- Jaffe ,M.Z. Phisiol Chem 10:391 (1886)
- 2.- DiGiorgio, J. Clinical Chemistry: Principes and Technics 2nd Edition By Henry, R.J. et al, Hagerstown (MD), Harper and Rowpp 541-553 (1974)
- 3.- Cook, J.G.H. Ann. Clin. Biochem, 12:219 (1975)
- 4.- Taussky. H.H. Standard metodhs of Clinical Chemistry vol. 3 New York Academic Press. p. 99 (1966)
- 5.-Heinegard, D; Tiderstorm, G; Clin. Chem Acta, 43:305 (1973)
- 6.- Fabiny, D.L, Ertinghausen, G; Chem 17:391 (1971)
- 7.- Young, D.S., et al Clin. Chem 21:1D (1975)

