

Determinazione quantitativa della Creatinina nel siero o nelle urine. Metodo cinetico colorimetrico di Jaffè modificato.

REF **CC1180** R1:3x80 mL + R2: 1x60 mL + R3 (standard): 1x3 mL

PRINCIPIO DEL METODO

In ambiente alcalino, la Creatinina reagisce con l'Acido Picrico, formando un sale di colore giallo-arancio. L'intensità di colore che si sviluppa in un prefissato intervallo di tempo, misurata fotometricamente, è direttamente proporzionale alla quantità di Creatinina presente nel campione in esame.

Creatinina + Acido Picrico → Creatinina picrato

SIGNIFICATO CLINICO

La Creatinina è un prodotto di rifiuto sintetizzato dall'organismo durante il metabolismo della creatina. In ogni individuo, il ritmo di produzione della Creatinina è pressoché costante nell'arco delle 24 ore ed è scarsamente influenzato da altri fattori, come il contenuto proteico della dieta. La quota prodotta è direttamente proporzionale alla massa muscolare dell'individuo e può perciò variare in relazione all'età, al sesso, alla razza e allo sport praticato. Una volta prodotta, la Creatinina viene riversata nel sangue ed eliminata con le urine, grazie alla filtrazione operata dal rene. Dal momento che tutta la Creatinina filtrata dal glomerulo renale viene completamente escreta (non vi è riassorbimento), il suo livello nelle urine costituisce un indice sensibile e specifico di funzionalità renale. Se questo è troppo basso significa che l'attività filtrante del rene è compromessa e si avrà, di riflesso, un aumento della concentrazione di Creatinina nel sangue.

COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

Reagente R1: NaOH, pH 12,7 300 mmol/L
Reagente R2: Acido Picrico 25 mmol/L
Reagente R3: Standard (Creatinina) valore in etichetta

PREPARAZIONE REAGENTI E STABILITÀ

Reagenti liquidi e pronti all'uso, stabili fino alla data di scadenza riportata, se conservati come riportato in etichetta e si evitano contaminazione, evaporazioni ed esposizione prolungata alla luce diretta.

Non congelare i reagenti. Scartare il reagente se appaiono segni di deterioramento come presenza di particelle e torbidità oppure mancato recupero dei valori di sieri di controllo certificati.

Dopo l'apertura dei flaconi, si consiglia di prelevare il volume necessario, di richiudere immediatamente i flaconi e di riporli in frigo al fine di evitare contaminazione, degradazione da luce diretta ed evaporazione.

Per la procedura Campione Starter, preparare una Soluzione di Lavoro miscelando 4 parti di R1 ed 1 parte di R2 (per esempio 20 mL di R1 + 5 mL di R2). Stabilità: 5 ore a 15-25° C.

Per la Procedura Reagente Starter, i reagenti R1 ed R2 sono pronti all'uso e stabili fino alla data di scadenza riportata in etichetta se si evitano contaminazione, evaporazioni ed esposizione prolungata alla luce diretta.

CAMPIONI

Siero, Plasma da eparina, Urine.

Diluire i campioni urinari 1:50 (1+49) con acqua distillata. Evitare campioni emolisati o lipemici. Separare il siero dal coagulo rapidamente.

La Creatinina nel siero/plasma è stabile 7 giorni a 4-25° C, 3 mesi a -20°C.

La Creatinina nelle urine è stabile 2 giorni a 20-25° C, 6 giorni a 4-8° C, 3 mesi a -20°C. Evitare evaporazioni. Scartare i campioni contaminati.

PROCEDURA

Lunghezza d'onda: 510 nm (500 – 530 nm)
 Temperatura: 37° C
 Misura: contro acqua distillata

Procedimento come Monoreagente (Campione Starter).

Pipettare come segue:

Soluzione Lavoro	1000 µL
Campione /Calibratore/Std	100 µL

Miscelare, incubare per 60 secondi ed effettuare la prima lettura fotometrica (Abs 1). Dopo altri 120 secondi effettuare la seconda lettura fotometrica (Abs 2). Calcolare il Delta (Δ) Assorbanza (Abs 2 – Abs 1).

Procedimento come bi-reagente (Reagente Starter).

Pipettare come segue:

Reagente R1	800 µL
Campione/Calibratore/Std	100 µL

Miscelare, incubare 60 secondi, poi aggiungere:

Reagente R2	200 µL
-------------	--------

Miscelare, trasferire in lettura, incubare per 60 secondi ed effettuare la prima lettura fotometrica (Abs 1). Dopo altri 120 secondi effettuare la seconda lettura fotometrica (Abs 2). Calcolare il Delta (Δ) Assorbanza (Abs 2 – Abs 1).

CALCOLO

Siero o Plasma:

Δ Abs Campione

Creatinina = $\frac{\Delta \text{ Abs Campione}}{\Delta \text{ Abs Calibratore / Std}} \times \text{Concentrazione Calibratore / Std}$

Urina:

Calcolare come per il siero/plasma e moltiplicare il risultato per 50 (diluizione iniziale del campione in esame).

Clearance Creatinina:

Clearance (mL/min) = $\frac{\text{Creatininuria (mg/dL)} \times \text{Vol Urine 24 h (in mL)} \times 1,73}{\text{Creatininemia (mg/dL)} \times 1440 \times \text{Superf. Corp. (mq)}}$

Per il calcolo della Superficie Corporea è possibile utilizzare il nomogramma di Du Bois (peso/altezza) oppure assumere 1,73 come valore standard per la superficie corporea di soggetti di altezza e peso ritenuti medi.

Fattore di conversione: mg/dL x 88,4 = µmol/L

CALIBRAZIONE

I risultati dipendono dalla accuratezza della calibrazione, dal corretto settaggio del test sullo strumento, dal giusto rapporto volumetrico reagente/campione e dalla corretta temperatura di analisi.

In alternativa allo standard accluso alla confezione, è possibile utilizzare il Calibratore di **MTD Diagnostics**:

Chemistry Multicalibrator - REF CAL1010 (10 x 3 mL).

CONTROLLO QUALITA'

Sieri di controllo normali e patologici a concentrazione nota, devono essere analizzati regolarmente in ogni seduta analitica.

Utilizzare il materiale di controllo di qualità di MTD Diagnostics:

Chemistry Control N - REF CNN1010 10x5 mL (Livello 1)

Chemistry Control P - REF CNP1020 10x5 mL (Livello 2)

VALORI DI RIFERIMENTO BIBLIOGRAFICI

Siero/Plasma:

Uomini: 0,7 – 1,2 mg/dL

Donne: 0,5 – 1,0 mg/dL

Urine:

Uomini: 40 – 278 mg/dL

Donne: 29 – 226 mg/dL

Clearance (adulti): 66.3 – 143 mL/min

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire un range di valori attesi in base alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare il proprio intervallo di riferimento. A fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati insieme alla storia medica del paziente, all'esame clinico e ad altri risultati.

PRESTAZIONI

PRECISIONE:

Livello basso: Campioni= 20; Media = 0,79; D.S. = 0,01; CV = 1,26%

Livello alto: Campioni= 20; Media = 5,74; D.S. = 0,05; CV = 0,87%

ACCURATEZZA: Una comparazione tra questo metodo (x) ed un metodo certificato del commercio (y) ha dato la seguente correlazione:

$$y=1,031x - 0,03 \text{ con } r=1,00$$

SENSIBILITA': 0,2 mg/dL

LINEARITA': 0,2 - 10 mg/dL

INTERFERENZE E SPECIFICITA'

Valori di Emoglobina fino a 500 mg/dL, di Trigliceridi fino a 500 mg/dL, di Bilirubina fino a 4 mg/dL, di Acido Ascorbico fino a 30 mg/dL non hanno influenzato i risultati ottenuti.

NOTE

1. Questo metodo può essere utilizzato con diversi strumenti. Qualsiasi applicazione a uno strumento deve essere convalidata per dimostrare che i risultati soddisfano le caratteristiche di prestazione del metodo. Si consiglia di convalidare periodicamente lo strumento. Contattare il proprio distributore per qualsiasi domanda sul metodo di applicazione.

2. La diagnosi clinica non dovrebbe essere fatta sui risultati di un singolo risultato del test, ma dovrebbe integrare sia i dati clinici che quelli di laboratorio.

PRECAUZIONI

R1 contiene SODIUM HYDROXIDE, 300 mmol/L – pH 12.7 - CAS N.: 1310-73-2 - C R35 (H314)

R2 contiene PICRIC ACID 25 mmol/L - CAS N. 88-89-1 - E T R2 () R23/24/25 (H331 – H311 - H301)

R2 (): Rischio d'esplosione per urto, sfregamento, presenza di fuoco o altre fonti d'ignizione.

R23/24/25 (H331 – H311 - H301): Tossico per inalazione, contatto con la pelle e ingestione.

R35 (H314): Provoca gravi ustioni.

Il prodotto contiene sostanze o miscele pericolose secondo la regolamentazione CE n° 1272/2008 (CLP), pertanto, esso necessita della etichettatura speciale prevista dalla suddetta regolamentazione. Il prodotto è etichettato secondo la direttiva per la marcatura CE (98/79/CE). Sodio Azide inferiore a 0.1%.

Tuttavia, in osservanza alle normali norme di prudenza che ognuno deve osservare allorchè si maneggi qualunque sostanza chimica o reagente di laboratorio, in caso di contatto dei Reagenti con l'operatore, occorre applicare i seguenti interventi di primo soccorso:

S26 (P305 – P351 – P338): In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare il medico.

S28 (P302 – P352): In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente ed abbondantemente.

S36/37/39 (P280): Usare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi/la faccia.

S46 (P301 – P310): In caso d'ingestione consultare immediatamente il medico e mostrargli il contenitore o l'etichetta. Se la vittima è cosciente, lavare la bocca con acqua.

S56 (P273): Smaltire questo materiale e relativi contenitori in un punto di raccolta autorizzato per rifiuti pericolosi o speciali, applicando la legislazione vigente.

S63 (P304 – P340): In caso di incidente per inalazione, allontanare l'infortunato dalla zona contaminata e mantenerlo a riposo.

Tutti i campioni in esame, calibratori e controlli devono essere trattati come materiale potenzialmente infettivo capace di trasmettere HIV ed epatiti.

PER OGNI ALTRA INDICAZIONE, RICHIEDERE LA SCHEDA DI SICUREZZA COMPLETA AL PRODUTTORE.

SIMBOLOGIA

	Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79 CE)		
	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti temperatura di conservazione
	Consultare istruzioni per l'uso		Dimensione / numero test
REF	Numero di catalogo		Scadenza
LOT	Numero di lotto		Fabbricante

BIBLIOGRAFIA

-Newman DJ, Price CP. Renal function and nitrogen metabolites. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 1204-1270.

-Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 366-74.

-Mazzachi BC, Peake MJ, Ehrhardt V. Reference Range and Method Comparison Studies for Enzymatic and Jaffe Creatinine Assays in Plasma and Serum and Early Morning Urine. Clin. Lab. 2000; 46: 53-55.

-Swanson AF, Swartzentruber M, Nolen PA et al. Multicenter Evaluation of the Boehringer Mannheim Compensated, Rate-Blanked Creatinine/Jaffe Application on BM/Hitachi Systems. Advances in Clinical Diagnostics. 1993. Boehringer Mannheim Corporation.