

Determinazione quantitativa della Creatinina nel siero o nelle urine. Metodo enzimatico colorimetrico.

REF CC1185 R1:3x50 mL + R2: 1x50 mL + R3 (standard): 1x3 mL

PRINCIPIO DEL METODO

Il metodo prevede una serie di reazioni enzimatiche accoppiate che portano alla formazione di Perossido di Idrogeno, il quale, in presenza di Perossidasi (POD) reagisce con un cromogeno e con 4-Amino-Antipirina, formando un composto colorato in rosso la cui intensità, misurata fotometricamente a 546 nm, è proporzionale alla quantità di creatinina presente nel campione in esame.

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:

Creatinasi	12 – 60 UI/mL
TOOS	0,07 – 0,21 mg/mL
Sarcosina Ossidasi (SOD)	4 – 17 UI/mL

Reagente R2:

Creatininasi	135 – 670 UI/mL
Perossidasi	≥50 UI/mL
4-Aminoantipirina	0,3 – 0,9 mg/mL

Reagente R3: Standard (Creatinina): valore in etichetta

PREPARAZIONE REAGENTI E STABILITA'

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.

CAMPIONI

Siero, Plasma da eparina, urine.

I campioni urinari vanno diluiti 1:50 (1+49) con acqua distillata. Non utilizzare campioni emolisati o lipemici. Separare il siero dal coagulo nel più breve tempo possibile.

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:	546 nm
Temperatura:	37° C
Misura:	contro bianco reagente

Pipettare come segue:

Reagente R1	270 µL
Campione/Calibratore/St	8 µL

Miscelare, incubare per 5 minuti ed effettuare la prima lettura fotometrica (Abs 1), poi aggiungere:

Reagente R2	90 µL
-------------	-------

Incubare per altri 5 minuti ed effettuare la seconda lettura fotometrica (Abs 2). Calcolare il Delta (Δ) Assorbanza (Abs 2 – Abs 1).

CALCOLO

Siero o Plasma:

$$\text{Creatinina} = \frac{\Delta \text{ Abs Camp.}}{\Delta \text{ Abs Calibr.}} \times \text{Concentrazione Calibratore/Standard.}$$

Urina:

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

Clearance Creatinina:

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

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.

Stima del Filtrato Glomerulare (GFR -Glomerular Filtration Rate secondo MDRD Modification of Diet in Renal Diseases) espresso in mL/min/1.73 mq (il calcolo è ritenuto attendibile solo se il valore della creatininemia è ottenuta con metodo enzimatico colorimetrico):

$$\text{e-GFR} = 175 \times \text{Creatininemia (mg/dL)}^{-1,154} \times \text{Età}^{-0,203} \times 0,742 \text{ (se femmina)} \times 1,212 \text{ (se afro americano)}$$

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

CALIBRAZIONE

In alternativa allo standard chimico contenuto nella confezione è possibile usare quale calibratore a matrice proteica il seguente prodotto di **MTD Diagnostics**:

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

CONTROLLO QUALITA'

Sieri di controllo normali e patologici contenenti quantità note, 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/1,73 mq

Valore stimato di GFR (Glomerular Filtration Rate secondo MDRD Modification of Diet in Renal Diseases) espresso in mL/min/1.73 mq:

Stadio 1	≥ 90	Funzionalità renale normale
Stadio 2	89 – 60	Danno con minima perdita di funzione renale, valutare presenza ematuria, albuminuria.
Stadio 3a	59 – 44	Da lieve a moderata perdita della funzione renale.
Stadio 3b	44 – 30	Da moderata a grave perdita della funzione renale.
Stadio 4	29 – 15	Severa perdita della funzione renale
Stadio 5	< 15	Insufficienza renale. Inizio dialisi.

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire un proprio intervallo di riferimento di valori attesi, in base alla propria popolazione di pazienti. I valori sopra indicati si devono intendere come una linea guida. I risultati ottenuti 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. = 0,02; CV = 2,53%

Livello alto: Campioni= 20; Media = 5,74; D.S. = 0,05; CV = 0,83%

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

$$y=0,9467x + 0,0643 - r=1,00$$

SENSIBILITA': 0,14 mg/dL

LINEARITA': 0,14 – 13,56 mg/dL

INTERFERENZE E SPECIFICITA'

Valori di Emoglobina fino a 400 mg/dL, di Trigliceridi fino a 1500 mg/dL, di Bilirubina fino a 20 mg/dL, di Acido Ascorbico fino a 25 mg/dL non hanno influenzato i risultati ottenuti. Elevate concentrazioni di acido omogentisico nei campioni di urina (alcaptonuria) portano a risultati falsi. In casi molto rari, campioni di pazienti con gammopatia potrebbero dare risultati falsificati.

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

R2 contiene 4-AMINOANTIPYRINE 2.5 mmol/L – CAS 83-07-8 Xn R22 (H302)

R22(H302) – Nocivo in caso di ingestione

Il prodotto non contiene altre sostanze o miscele pericolose secondo la regolamentazione CE n° 1272/2008 (CLP) ovvero le loro concentrazioni sono tali da non essere considerate persistenti, bioaccumulanti o tossiche (PBT). Pertanto, esso non è soggetto alla 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 le istruzioni per l'uso		Dimensione / numero test
REF	Numero di catalogo		Scadenza
LOT	Numero di lotto		Fabricante

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.