

## Uso previsto

Determinazione quantitativa della creatinina nel siero umano utilizzando gli analizzatori Yumizen C230 e Yumizen C240. Esclusivamente per fini diagnostici *in vitro*. **Solo su prescrizione.**

## Interesse clinico

Il dosaggio della creatinina viene solitamente eseguito per facilitare il controllo della funzionalità renale.

## Storia del metodo diagnostico

Nel 1886, Jaffe<sup>1</sup> presentò un metodo per il dosaggio della creatinina che prevedeva il ricorso a un filtrato privo di proteine e una reazione con acido picrico in soluzione alcalina. Sebbene da allora siano stati descritti diversi metodi, la reazione classica di Jaffe è ancora il metodo più utilizzato. La reazione di Jaffe è soggetta a interferenze da parte di numerose sostanze, tra cui proteine e glucosio.<sup>2,3,4</sup> Per ovviare a questi inconvenienti sono state elaborate modifiche della procedura.<sup>5</sup> Le procedure cinetiche<sup>6</sup> sono diventate popolari perché sono veloci, semplici ed evitano le interferenze. Il metodo in esame si basa su una modifica della procedura sopra descritta, che prevede l'aggiunta di un tensioattivo e di altri ingredienti per ridurre al minimo le interferenze di proteine e carboidrati.

## Principio

Creatinina + sodio picrato  $\xrightarrow{\text{soluzione alcalina}}$  complesso creatinina-picrato (giallo-arancione)

In ambiente alcalino, la creatinina reagisce con l'acido picrico formando un complesso che assorbe a 510 nm. La velocità di formazione del colore è proporzionale alla quantità di creatinina presente nel campione.

## Reagenti

Reagente per creatinina R1: tampone alcalino  
 Reagente per creatinina R2: acido picrico 40mM, tensioattivo

## Preparazione dei reagenti

I reagenti sono forniti pronti per l'uso.

## Conservazione e stabilità dei reagenti

I due reagenti vanno conservati a temperatura ambiente. (15-30° C). Se conservati seguendo le raccomandazioni, i reagenti sono stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta.

## Deterioramento dei reagenti

Non utilizzare il reagente se:

1. Il reagente è torbido (contaminato).
2. Il reagente non raggiunge i valori assegnati ai controlli di siero fresco.

## Precauzioni

1. Il reagente è destinato esclusivamente a fini diagnostici *in vitro*.
2. L'acido picrico è un agente fortemente ossidante. Evitare il contatto con la pelle. RIMUOVERE EVENTUALI FUORIUSCITE, POICHÉ L'ACIDO PICRICO EVAPORATO È ESPLOSIVO.
3. Tutti i campioni e i controlli devono essere trattati secondo le buone pratiche di laboratorio, utilizzando opportune precauzioni descritte nel manuale CDC/NIH, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 2<sup>a</sup> ed. 1988, HHS N. (CDC) 88-8395.

## Raccolta e conservazione dei campioni

1. Si raccomanda di utilizzare campioni di siero.
2. La creatinina nel siero resta stabile per ventiquattro ore se conservata in frigorifero (2-8°C) e per diversi mesi se congelata (-20°C) e protetta dall'evaporazione e dalla contaminazione.
3. I campioni di urina delle 24 ore vanno conservati con 15 grammi di acido bórico.
4. La raccolta dei campioni deve essere effettuata secondo le indicazioni del NCCLS M29-T2.<sup>7</sup> Nessun metodo può offrire la totale certezza che i campioni di sangue umano non trasmettano infezioni. Pertanto, tutti i campioni di sangue devono essere considerati potenzialmente infettivi.

## Interferenze

1. L'accuratezza del dosaggio della creatinina può essere compromessa da una serie di sostanze. Si veda Young, et al.<sup>8</sup>

2. Livelli di emoglobina fino a 500mg/dl, di bilirubina fino a 20 mg/dl e di lipemia / trigliceridi (Intralipid usato come stimolante) fino a 1000mg/dl hanno effetti trascurabili (<10%) sulla metodica. Gli studi sono stati condotti seguendo una modifica delle linee guida contenute nel documento EP7-P dell'istituto NCCLS e utilizzando l'analizzatore Hitachi 717™.<sup>9</sup>

## Materiali in dotazione

1. Reagente per creatinina R1
2. Reagente per creatinina R2

## Materiali necessari non in dotazione

1. Analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240.
2. Manuale utente per gli analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240.
3. Calibratore chimico, numero di catalogo C7506-50
4. Controllo chimico, numero di catalogo C7592-100

## Parametri di analisi

|                      |             |                     |            |
|----------------------|-------------|---------------------|------------|
| Analisi:             | CREAT       | Sostanza chim.:     | Creatinina |
| N. chim.:            | 212         | Nome etichetta:     | Creatinina |
| Tipo reazione:       | Tempo fisso | Direzione reazione: | positiva   |
| Lungh. d'onda prim.: | 510 nm      | Lungh. d'onda sec.  | 578 nm     |
| Decimale:            | 0,01        | Tipo campione:      | sier       |
| T. bianco:           |             | T. reazione:        | 2 7        |
| Unità:               | mg/dl       | T. incubazione:     | 3          |

|             | Vol. campione | Aspirato | Diluente | Vol. reagente | Diluente |
|-------------|---------------|----------|----------|---------------|----------|
| Standard:   | 7,2           | ul       | ul       | R1: 120       | ul       |
| Decremento: | ul            | ul       | ul       | R2: 24        | ul       |
| Incremento: | ul            | ul       | ul       |               |          |

|                                    |               |                          |               |
|------------------------------------|---------------|--------------------------|---------------|
| Intervallo linearità (standard):   |               | Limite linearità:        |               |
| Intervallo linearità (decremento): |               | Esaurim. substrato:      |               |
| Intervallo linearità (incremento): |               | Assorb. bianco mix:      | - 40000 40000 |
| Assorb. bianco R1:                 | - 40000 40000 | Stabilità in macchina:   | Giorno/i      |
| Risposta bianco                    | - 40000 40000 | Limite allarme reagente: | 10            |
| Doppia chim.:                      |               |                          |               |

|                         |     |      |
|-------------------------|-----|------|
| Controllo eff. prozona: |     |      |
| Q1:                     | Q2: | Q3:  |
| Q4:                     | PC: | ABS: |

|                        |                   |  |
|------------------------|-------------------|--|
| Risultato qualitativo: |                   |  |
| Intervallo:            | Val. fuori norma: |  |

|                  |        |       |  |
|------------------|--------|-------|--|
| Pendenza Offset: |        |       |  |
| Pendenza         | Offset | Unità |  |
| 1                | 0      | mg/dL |  |

|                          |    |                          |    |
|--------------------------|----|--------------------------|----|
| Tratt. preliminare:      |    |                          |    |
| Vol. campione pretratt.: | ul | Vol. reagente pretratt.: | ul |

|                  |        |                 |                  |                     |        |
|------------------|--------|-----------------|------------------|---------------------|--------|
| Intervallo rif.: |        |                 |                  |                     |        |
| Tipo campione:   | Sesso: | Intervallo età: | Intervallo rif.: | Intervallo critico: | Unità: |

## Parametri di configurazione della calibrazione

|                      |                   |            |  |  |
|----------------------|-------------------|------------|--|--|
| Analisi chim.        | Creat             |            |  |  |
| Impostazioni calibr. |                   |            |  |  |
| Modello mat.:        | Lineare a 2 punti |            |  |  |
| Fattore:             | Repliche: 2       |            |  |  |
| Limiti accettabilità |                   |            |  |  |
| T. calibr.:          | h                 |            |  |  |
| Diff. pendenza:      | DS:               |            |  |  |
| Sensibilità:         | Ripetibilità:     |            |  |  |
|                      | *Def. utente      |            |  |  |
| Coeff. deter.:       | Calibr. autom.    | T. calibr. |  |  |

| Calibratore | Conc. | Pos. | N. lotto: |
|-------------|-------|------|-----------|
| acqua       | 0,0   | W    |           |
| Cal. chim.  | *     | *    |           |
|             |       |      |           |
|             |       |      |           |

# Kit reagenti Creatinina Pointe

## Limitazioni

I campioni con valori superiori a 25 mg/dl andrebbero diluiti 1:1 con soluzione fisiologica, nuovamente analizzati e i risultati andrebbero moltiplicati per 2.

## Calibrazione

Utilizzare un calibratore per siero con tracciabilità NIST. La procedura va calibrata seguendo le istruzioni del produttore dello strumento. Se i risultati del controllo risultano fuori range, sarà necessario effettuare una ricalibrazione. **NOTA:** Quando non in uso, i contenitori dei reagenti per la creatinina vanno tappati. Questo accorgimento migliora la stabilità della calibrazione. Altrimenti, si consiglia di calibrare il test quotidianamente.

## Calcolo (esempio)

Il valore della creatinina del campione viene determinato confrontando la variazione della sua assorbanza rispetto a quella di uno standard noto.

$$\text{Mg/dl} = \frac{\Delta \text{ abs (campione)}}{\Delta \text{ abs (standard)}} \times \text{concentrazione dello std. (mg/dl)}$$

con:  $\Delta \text{ abs.} = \text{variazione di assorbanza tra le letture (A}_2\text{-A}_1\text{)}$

## Calcolo campione:

Se:  $\Delta \text{ abs/campione} = 0,02$   
 $\Delta \text{ abs/ standard} = 0,05$   
Conc. standard = 2,5 mg/dl

Allora:  $0,02 \times 2,5 = 1,0 \text{ mg/dl di creatinina}$   
0,05

## Controllo qualità

La bontà della reazione va monitorata utilizzando sieri di controllo con valori normali e patologici noti di creatinina. I controlli vanno eseguiti in ogni turno in cui si effettuano analisi della creatinina. Si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca la frequenza interna dei controlli. Il controllo qualità richiesto va eseguito in conformità con le normative locali, statali e/o federali o ai requisiti di accreditamento.

## Valori attesi

0,40 – 1,40 mg/dl

Si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca il proprio intervallo di riferimento per la procedura.

## Prestazioni

- Intervallo di analisi: 0,1- 25,0 mg/dL
- Correlazione: È stato condotto uno studio comparativo tra l'impiego dell'analizzatore Yumizen serie 200 e di un analizzatore simile per l'applicazione del metodo. Si è ottenuta un' equazione di regressione  $y = 1,018x - 0,03$  con un coefficiente di correlazione  $r^2 = 0,999$  (n=50)
- Precisione: gli studi sulla precisione sono stati condotti seguendo una modifica delle linee guida contenute nel documento EP5-T2 dell'istituto NCCLS e utilizzando un analizzatore Yumizen serie 200.<sup>10</sup>

| Intra-giorn. |      |       | Inter-giorn. |      |       |
|--------------|------|-------|--------------|------|-------|
| Media        | D.S. | C.V.% | Media        | D.S. | C.V.% |
| 1,49         | 0,06 | 4,0   | 1,24         | 0,04 | 3,2   |
| 6,33         | 0,12 | 1,9   | 7,11         | 0,41 | 5,8   |

## Riferimenti bibliografici

- Jaffe, M., Z. Physiol. Chem. 10:391 (1886).
- DiGiorgio, J., Clinical Chemistry: Principles and Technics, 2<sup>nd</sup> Ed., Edited by Henry, R.J., et al, Hagerstown (MD), Harper & Row, pp. 541-553 (1974).
- Cook, J.G.H., Ann. Clin. Biochem. 12:219 (1975).
- Tausky, H.H., Standard Methods of Clinical Chemistry, Vol. 3, New York Academic Press, p. 99 (1966).
- Heinegard, D., Tiderstom, G., Clin. Chem. Acta, 43:305 (1973).
- Fabiny, D.L., Ertingshausen, G., Clin. Chem. 17:391 (1971).
- NCCLS document "Protection of Laboratory Workers form Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue", 2<sup>nd</sup> Ed. (1991).
- Young, D.S. et al, Clin. Chem. 21:1D (1975).
- Documento NCCLS "Interference testing in Clinical Chemistry", 2<sup>nd</sup> Ed. (1992).

- Documento NCCLS "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2<sup>nd</sup> Ed., (1992).

## Legenda

|   |   |
|---|---|
| Utilizzare entro (aaaa-mm-gg)                             | <b>LOT</b> Codice lotto e gruppo                |
| <b>REF</b> N. catalogo                                    | Fabbriante                                      |
| <b>IVD</b> Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i> | Limiti di temperatura                           |
| Consultare il manuale utente                              | <b>Rx Only:</b> utilizzare solo su prescrizione |
|   |   |

|                        |   |  |            |
|------------------------|---|--|------------|
| <b>REF</b> 12-C7539-98 | Prodotto da<br>HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand<br>5449 Research Drive Canton, MI 48188 |  | <b>IVD</b> |
|------------------------|---|--|------------|

Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand  
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Rappresentante autorizzato per l'Europa:  
Obelis s.a.  
Boulevard Général Wahis 53  
1030 Bruxelles, BELGIO  
tel: (32)2.732.59.54 fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net

## Reagenti certificati

I reagenti Pointe sono certificati per essere stati prodotti conformemente ai parametri specificati. Se entro la data di scadenza un reagente Pointe dovesse risultare non conforme alle specifiche, sarà prontamente sostituito senza alcun addebito.