

Reagenz zur quantitativen In-vitro-Bestimmung von Kreatinins im Serum / Plasma

KRE 121

Best. Nr. KRE 121
Inhalt: 20 Tests

Methode
 Jaffé-Reaktion, kinetische Messung ohne Enteweißung

Probenmaterial
 Serum oder Plasma
 Haltbarkeit im Serum bei +2°C bis +8°C: 24 Std.
 Hämolyse stört.

Reagenz
 Inhalt / Konzentrationen:
 1. Pikrinsäure (vorportioniert in Rundküvetten)
 Pikrinsäure 18 mmol/L
 2. Pufferlösung
 Phosphat 10 mmol/L, NaOH 400 mmol/L, pH > 12,0

Sicherheitshinweis
 Einstufung des Kits HST 321 gemäß EG-Verordnung 1272/2008 (CLP)
 H301 + H311 + H331: Giftig bei Verschlucken, Hautkontakt oder Einatmen.
 H315: Verursacht Hautreizungen.
 H319: Verursacht schwere Augenreizung.

Ein Sicherheitsdatenblatt wird auf Anforderung zur Verfügung gestellt. 1)

Lagerung und Haltbarkeit
 Haltbarkeit: Das Reagenz ist bei +15°C bis +30 °C bis zu dem auf der Packung angegebenen Verfalldatum haltbar.

Messbedingungen
 Messgeräte: Vario Photometer
 Vario Photometer II
 Messwellenlänge: 520nm
 Temperatur: 37°C
 2-Punkt Messung Extinktionszunahme während der Reaktion

Zusätzlich erforderlich: 37°C-Thermostat

Messbereich
 0,1 - 4,0 mg/dL (8,8 - 354 µmol/L)
 Bei höheren Werten Probe 1+5 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnen (Ergebnis x 6).

- Arbeitsanleitung**
- 1000µL Pufferlösung in eine Rundküvette KRE 121 pipettieren. (Reagenzmischung dunkel aufbewahren. Verwendbarkeit des vorgemischten Reagenzes bei +15° bis +30°C: 2 Std.)
 - Diese Küvette im Trockenthermostaten 7 Minuten bei 37°C inkubieren.
 - 500µL Serum/Plasma in diese Küvette überführen, mischen und 1 Minute im Trockenthermostaten bei 37°C inkubieren.
 - Test <KRE> anwählen und die Rundküvette nach Ablauf der Temperierungszeit von 1 Minute in das Gerät einsetzen.
 - Das Ergebnis wird nach zwei Minuten in mg/dL angezeigt.

In Rundküvette pipettieren:	
	Analyse
Pufferlösung	1000 µL
7 Minuten bei 37°C inkubieren	
Probe	500 µL
Mischen und 1 Minute bei 37°C inkubieren.	

Berechnung
 Kreatinin-Konzentration:
 $C_{\text{Kreatinin}} [\text{mg/dL}] = (E2 - E1) \times \text{Faktor}$

Berechnung der Kreatininausscheidung pro Tag:
 $\text{Kreatinin-Konz.} [\text{mg/dL}] / 100 \text{ g} = \text{Kreatinin} / 24 \text{ Std.}$

Qualitätssicherung
 Für die Qualitätssicherung empfehlen wir die Universal Kontrollseren der Firma Roche, www.roche.de: PreciControl ClinChem Multi 1 / Multi 2 (4 x 5 mL)
 Order-No.: 05 947 626 190 / 05 947 774 190
 Ref.: Roche / Hitachi analyzers,
 Method: Jaffé compensated STAT

Referenzwerte²⁾

Serum	mg/dL	µmol/L
Männer unter 50 J	0,84 - 1,25	59 - 120
	über 50 J	0,81 - 1,44
Frauen	0,66 - 1,09	58 - 96

Zusammenfassung
 Serumkreatinin ist ein Ausscheidungsprodukt, das beim Abbau von Creatinphosphat, einem wichtigen Energiespeicher der Muskelzelle, entsteht. Der Serumkreatininspiegel ist bei Patienten mit Nierenfunktionsstörungen erhöht.

- Indikationen / Diagnostische Bedeutung:^{2,5)}
 Erfassen einer eingeschränkten glomerulären Filtrationsrate (GFR) bei
- akuten und chronischen Nierenerkrankungen
 - pathologischen Harn befunden
 - Hypertonie
 - Stoffwechselstörungen (Diabetes mellitus, Hyperurikämie)
 - Hämodialysebehandlung
 - extrarenalen Erkrankungen mit Durchfall etc.
 - Screeninguntersuchungen beschwerdefreier Patienten
 - Verlaufs- und Nachkontrolle von Patienten mit Nierenerkrankungen.

Zur Bestimmung des Kreatinins hat sich im Routinebetrieb die kostengünstige Jaffé-Methode, die in unterschiedlichen Varianten zur Anwendung kommt, bewährt. Daneben existieren verschiedene enzymatische Methoden, die eine höhere Spezifität aufweisen. Der Diaglobal-Test basiert auf der Jaffé-Reaktion. Die Messung erfolgt kinetisch.

Messprinzip
 Kreatinin bildet in alkalischer Lösung mit Pikrinsäure einen gelbroten Farbkomplex.

Kreatinin + Pikrinsäure → Farbkomplex

Die Zunahme der Farbintensität ist der Konzentration des Kreatinins in der Probe direkt proportional und wird photometrisch bei 520 nm bestimmt.^{3,4)}

Leistungsmerkmale
Spezifität / Interferenzen⁶⁾
 Keine Störung durch Hämoglobin (< 4,0 g/L), Bilirubin (< 5 mg/dL), Lipämie (Triglyceride < 250 mg/dL), Glucose (< 270 mg/dL), Urobilinogen (< 40 mg/dL) und Ascorbinsäure in physiologischen Konzentrationen (< 25 mg/L). Erhöhte Werte durch Acetoacetat (> 5,0 mmol/L), Aceton (> 3,4 mmol/L) und Pyruvat (> 1 mmol/L).
 Arzneimittelinterferenzen: Falsch erhöhte Werte durch Cefoxitin (> 70 mmol/L).

Unpräzision
 Die Reproduzierbarkeit wurde mit Human- und Kontrollproben überprüft.

In der Serie [n = 20]	Mittelwert [mg/dL]	Standard-Abweichung [mg/dL]	VK [%]
Probe 1 Probe 2	1,14 3,52	0,04 0,09	3,9 2,7
Von Tag zu Tag [n = 20]	Mittelwert [mg/dL]	Standard-Abweichung [mg/dL]	VK [%]
Probe 1 Probe 2	1,12 3,50	0,05 0,10	4,4 2,9

Analytische Sensitivität
 Untere Nachweisgrenze: 0,1 mg/dL

Methodenvergleich
 Ein Vergleich des Diaglobal-Tests KRE 121 (y) mit einem anderen kommerziell erhältlichen Test (x) ergab nach dem Verfahren von Passing/Bablok⁷⁾ die Korrelation:
 $y = 1,038x - 0,141$
 $r = 0,996$
 n = 26, Konzentrationsbereich: 0,5 - 4,0 mg/dL

Literatur

1. <http://www.diaglobal.de/de/service/downloads/index.htm>
2. Thomas L. Labor und Diagnose. 4.Aufl. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft 1995: 447
3. Bartels H, Böhmer M, Heierli C. Clin Chim Acta 1972; 37:193
4. Helger R, Rindfrey H, Hilgenfeldt J. Z Klin Biochem 1974; 12 344
5. Sarre H. Nierenkrankheiten. Stuttgart: Georg Thieme, 1959
6. Sonntag O. Arzneimittelinterferenzen. Stuttgart, New York: Thieme Verlag, 1985:31
7. Passing H, Bablok W. A new biometric procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. J Clin Chem Clin Biochem. 1983; 21:709-72

Reagent for quantitative In-vitro-determination of creatinine in serum / plasma

KRE 121

Order No. KRE 121
Content: 20 tests

Method
Jaffé Reaction, kinetic measurement without deproteinization

Sample material
Serum, plasma or urine
Stability in serum at +2°C to +8°C: 24 hours
Haemolysis disturbs.

Reagents
Content / concentrations:
1. Picric acid (pre-portioned in round cuvettes)
Picric acid 18 mmol/L
2. Buffer solution
Phosphate 10 mmol/L, NaOH 400 mmol/L, pH > 12.0

Safety information
Classification of the kit HST 321 according to EC regulation 1272/2008 (CLP)
H301 + H311 + H331: Toxic if swallowed, in contact with skin or if inhaled.
H315: Causes skin irritation.
H319: Causes serious eye irritation.

A safety data sheet is available on request.¹⁾

Storage and shelf life
Shelf life: The test reagent can be kept at a temperature between +15°C and +30°C until the expiry date indicated on the packaging.

Measurement conditions
Measurement devices: Vario Photometer
Vario Photometer II
Meas. wavelength: 520nm
Temperature: 37°C
2 point measurement Absorption increase during the reaction

Additionally required: Dry block heater 37°C

Measurement range
0.1 – 4.0 mg/dL (8.8 - 354 µmol/L)
In case of exceeding values, dilute the sample 1+5 with physiological saline solution (multiply the result by 6).

Working instructions

- Pipette 1000µL buffer solution into a round cuvette KRE 121. (Keep the reagent mixture in a dark place. The premixed reagent is stable for two hours at 15°C to 30°C.)
- Incubate this cuvette in the dry block heater for 7 minutes at 37°C.
- Pipette 500µL serum/plasma in this cuvette, mix and incubate in the dry block heater for 1 minute at 37°C.
- Select test <CRE> and insert the round cuvette into the device.
- The result will be displayed in mg/dL after two minutes.

Pipette in single test cuvettes:	
	Analysis
Buffer solution Incubate for 7 minutes at 37°C	1000 µL
Sample	500 µL
Mix and incubate for 1 minute at 37°C	

Calculation
Creatinine concentration:
 $C_{\text{creatinine}} [\text{mg/dL}] = (A2 - A1) \times \text{factor}$

Calculation of creatinine excretion per day:
Creatinine conc. [mg/dL] / 100 g = creatinine / 24 hrs.

Quality assurance
For quality assurance we recommend universal control sera from company Roche, www.roche.de:
PreciControl ClinChem Multi 1 / Multi 2 (4 x 5 mL)
Order-No.: 05 947 626 190 / 05 947 774 190
Ref.: Roche / Hitachi analyzers,
Method: Jaffé compensated STAT

Reference values²⁾

Serum	mg/dL	µmol/L
Men below 50 years	0.84 - 1.25	59 - 120
	0.81 - 1.44	71 - 127
Women	0.66 - 1.09	58 - 96

Summary
Serum creatinine is a degradation product which arises due to the decomposition of creatinine phosphate, an important energy storage of the muscle cell.
Patients with a renal disfunction have an elevated serum creatinine level.

Indications / diagnostic significance: ^{2,5)}
Detect a limited glomerular filtration rate (GFR) at
- acute and chronic renal diseases
- pathological urine findings
- hypertonia
- metabolic disorders (diabetes mellitus, hyperuricemia)
- haemodialysis therapy
- extrarenal diseases with diarrhoea ecc.
- screening examinations of symptom-free patients
- monitoring and re-examination of patients with renal diseases.

For the determination of creatinine the economic Jaffé method, which is implemented in diverse variants, has proved best in routine operations. Furthermore, different enzymatic methods exist which show a higher specificity. The Diaglobal test is based on the Jaffé Reaction. The measurement is performed kinetically.

Measurement principle
Creatinine generates with picric acid in a basic solution a yellow-red colour complex.

Creatinine + Picric acid → Colour complex

The increase of the colour intensity is directly proportional to the creatinine concentration in the sample and is determined photometrically at 520 nm.^{3,4)}

Performance parameters
Specificity / interferences⁶⁾
No interference due to haemoglobin (< 4.0 g/L), bilirubin (< 5 mg/dL), lipaemia (triglycerides < 250 mg/dL), glucose (< 270 mg/dL), urobilinogen (< 40 mg/dL) and ascorbic acid in physiological concentrations (< 25 mg/L). Elevated values because of acetoacetic acid (> 5.0 mmol/L), acetone (> 3.4 mmol/L) and pyruvate (> 1 mmol/L).
Interferences due to pharmaceuticals: falsified elevated values because of cefoxitin (> 70 mmol/L).

Inaccuracy
The reproducibility was checked using human and control samples.

In series [n = 20]	Average [mg/dL]	Standard deviation [mg/dL]	VK [%]
Sample 1 Sample 2	1.14 3.52	0.04 0.09	3.9 2.7
From day to day [n = 20]	Average [mg/dL]	Standard deviation [mg/dL]	VK [%]
Sample 1 Sample 2	1.12 3.50	0.05 0.10	4.4 2.9

Analytic sensitiveness
Lower detection limit: 0.1 mg/dL

Comparison of methods
A comparison of the Diaglobal test KRE 121 (y) and a commercially available test (x) resulted in the following correlation according to the Passing/Bablok⁷⁾ process:
 $y = 1.038x - 0.141$
 $r = 0.996$
n = 26, concentration range: 0.5 - 4.0 mg/dL

Bibliography

- http://www.diaglobal.de/de/service/downloads/index.html
- Thomas L. Labor und Diagnose. 4th edition. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft 1995: 447
- Bartels H, Böhmer M, Heierli C. Clin Chim Acta 1972; 37:193
- Helger R, Rindfrey H, Hilgenfeldt J. Z Klin Biochem 1974; 12 344
- Sarre H. Nierenkrankheiten. Stuttgart: Georg Thieme, 1959
- Sonntag O. Arzneimittelinterferenzen. Stuttgart, New York: Thieme Verlag, 1985:31
- Passing H, Bablok W. A new biometric procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. J Clin Chem Clin Biochem. 1983; 21:709-72