

Creatinina

Kit para determinação da creatinina por metodologias colorimétrica de ponto final e cinética de dois pontos.

REF. 335

MS 80022230143



Analisa

MÉTODO

Picrato Alcalino.

FINALIDADE

Reagentes para determinação da creatinina no soro, plasma e urina.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO

Procedimento colorimétrico de ponto final: A creatinina e os interferentes presentes na amostra reagem com o picrato alcalino, formando um complexo colorido que é medido fotometricamente.

A adição de um acidificante abaixa o pH para 5,0 decompõe o picrato de creatinina, deixando inalterada a cor derivada dos cromogênios que também é medida fotometricamente. Nesta metodologia, mede-se a absorção do complexo formado antes e após a acidificação do meio.

O valor de creatinina da amostra é calculado pela diferença entre as duas leituras fotométricas.

Procedimento cinético colorimétrico: A creatinina e os interferentes presentes na amostra reagem com o picrato em meio alcalino originando um complexo colorido. Mede-se a velocidade de formação desse complexo em períodos iniciais curtos, evitando-se assim a interferência de outros compostos. Uma primeira leitura é feita aos 30 segundos iniciais da reação para eliminar o efeito dos interferentes de reação rápida. Aos 90 segundos de reação é feita uma segunda leitura, antes que os interferentes de reação lenta possam ter efeitos significativos. Dessa forma, a determinação fotométrica do produto final fica livre de interferentes, referindo-se exclusivamente à creatinina presente.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A creatinina sendo um dos produtos do metabolismo nitrogenado deve ser removida do corpo continuamente através dos rins. A constância na formação e excreção da creatinina faz dela um marcador muito útil de função renal, principalmente da filtração glomerular, em virtude da sua relativa independência de fatores como dieta, grau de hidratação e metabolismo protéico.

A determinação da creatinina plasmática é um teste de função renal mais seguro do que a uréia. Nas doenças renais, a creatinina se eleva mais vagarosamente do que a uréia e se reduz mais vagarosamente com a hemodiálise.

A dosagem elevada indica disfunção renal e o grau de evolução da enfermidade.

QUALIFICAÇÕES DO PRODUTO

- Metodologias colorimétricas de ponto final ou cinética de dois pontos precisas e exatas para a dosagem da creatinina.
- Os procedimentos podem ser aplicados em sistemas manuais, semi-automáticos e automáticos.

IDENTIFICAÇÃO DOS REAGENTES

Conservar em temperatura ambiente (15-25 °C).

1. **Padrão** - Contém creatinina 4,0 mg/dL.

Após aberto, o Padrão (1) deve ser conservado bem vedado entre 2-8 °C.

2. **Ácido Pícrico** - Contém ácido pícrico 44,4 mmol/L.

3. **Tampão Alcalino** - Contém hidróxido de sódio 208 mmol/L, tetraborato de sódio 12,7mmol/L e surfactante. Em baixas temperaturas o Tampão (3) pode turvar, porém não há interferência na sua qualidade. Incubar a 37 °C até completa dissolução e homogeneizar.

4. **Acidificante** - Contém ácido acético 11,4 mol/L.

ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até o vencimento da data de validade impressa no rótulo do produto e na caixa quando conservados na temperatura recomendada, bem vedados e se evite a contaminação durante o uso.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro (leitura entre 500 e 540 nm);
- Equipamento com cubeta termostaticada para o procedimento cinético;
- Banho-maria na temperatura de 37 °C para o procedimento de ponto final;
- Tubos e pipetas;
- Cronômetro.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes e amostra biológica.
- Recomendamos o uso das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos para a execução do teste.
- O Tampão Alcalino (3) é corrosivo. O Acidificante (4) é irritante. Contato com os olhos, pele ou mucosas devem ser evitados. Não aspirar ou ingerir.
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.

AMOSTRA

SORO, PLASMA e URINA.

No soro ou plasma, a creatinina é estável por 7 dias a 2-8 °C.

Na urina a estabilidade é de 4 dias a 2-8 °C.

A amostra de urina de 24 horas deve ser conservada em geladeira durante o período de coleta até o momento da dosagem.

Nota

Recomendamos que a coleta, preparação, armazenamento e descarte das amostras biológicas sejam realizadas seguindo as recomendações das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Enfatizamos que os erros provenientes da amostra podem ser muito maiores do que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

INTERFERÊNCIAS

A bilirrubina até 5 mg/dL, lipemia (triglicérides até 250 mg/dL), hemólise (hemoglobina até 180 mg/dL) não produzem interferências significativas.

Valores de bilirrubina acima de 5 mg/dL produzem resultados falsamente diminuídos.

Valores de triglicérides acima de 250 mg/dL produzem resultados falsamente elevados.

PROCEDIMENTO DO TESTE

São apresentados três procedimentos: Procedimento direto, Procedimento com desproteinização e Procedimento cinético.

1. PROCEDIMENTO DIRETO

A. Condições de Reação

- Leitura: Comprimento de onda 510 nm (500 a 540 nm)
- Medida: Acertar zero de absorbância com o tubo Branco
- Tipo de Reação: Ponto final

B. Técnica de Análise

1. Identificar 3 tubos de ensaio como Branco, Teste e Padrão e proceder:

Tubos	Branco	Teste	Padrão
Padrão (1)	-----	-----	0,25 mL
Amostra (soro ou urina diluída)	-----	0,25 mL	-----
Água destilada/deionizada	0,25 mL	-----	-----
Tampão Alcalino (3)	2,0 mL	2,0 mL	2,0 mL
Ácido Pícrico (2)	0,5 mL	0,5 mL	0,5 mL

2. Homogeneizar e incubar os tubos a 37 °C por 10 minutos.

O nível de água no banho-maria deve ser superior ao nível de reagentes nos tubos.

3. Fazer as leituras fotométricas em 510 nm ou filtro verde (500 a 540 nm), acertando o Zero de absorbância com o tubo Branco.

A primeira absorbância do tubo Teste será A_1 .

Acidificante (1)	0,1 mL	0,1 mL	-----
------------------	--------	--------	-------

4. Homogeneizar e esperar 5 minutos na temperatura ambiente.

5. Fazer nova leitura do tubo Teste em 510 nm ou filtro verde (500 a 540 nm), acertando o Zero de absorbância com o tubo Branco.

A segunda leitura do tubo Teste será A_2 .

C. Cálculos

CP = Concentração do Padrão = 4,0 mg/dL

CT = Concentração do Teste

ΔA do Teste = $A_1 - A_2$

FC = Fator de Calibração = $CP \div AP$

$FC = 4,0 \div AP$

Exemplo: Se $AP = 0,238$

Se A_1 Teste = 0,140

Se A_2 Teste = 0,045

ΔA do Teste = $A_1 - A_2 = 0,140 - 0,045 = 0,095$

$FC = 4,0 \div 0,238 = 16,8$

$CT = FC \times \Delta A$ do Teste = $16,8 \times 0,095 = 1,6$ mg/dL

Dosagem da Urina

A. Coleta e preparo da Amostra

Instruir o paciente para coletar corretamente a urina no período de tempo estipulado pelo médico (12 - 24 horas ou outro).

Homogeneizar bem a amostra de urina, medir o seu volume e centrifugar uma alíquota.

Diluir a urina a 1/25 com água deionizada ou destilada.

Exemplo: 0,2 mL de urina + 4,8 mL de água deionizada.

B. Dosagem e cálculos

Seguir a mesma metodologia para a dosagem no soro.

Multiplicar o valor obtido por 25.

CT em mg/dL = valor obtido na dosagem x 25.

CT em mg/24 horas é encontrado multiplicando o valor obtido em mg/dL pelo volume de urinário (mL) de 24 horas e dividindo o resultado por 100.

2. PROCEDIMENTO COM DESPROTEINIZAÇÃO

Notas

1. Empregar este procedimento para amostras ictericas e turvas ou quando ocorrer turvação no Procedimento de ensaio direto.

2. Em amostras muito leitosas, pode-se não se obter um sobrenadante límpido. Nestes casos, não será possível a determinação da creatinina.

Técnica de Análise

1. Em um tubo de centrifuga misturar 0,5 mL de amostra com 1,0 mL de Ácido Pícrico
- (2). Homogeneizar e centrifugar por 10 minutos.

2. Identificar 3 tubos de ensaio como Branco, Teste e Padrão e proceder:

Tubos	Branco	Teste	Padrão
Padrão (1)	-----	-----	0,25 mL
Sobrenadante límpido	-----	0,75 mL	-----
Água destilada/deionizada	0,25 mL	-----	-----
Tampão Alcalino (3)	2,0 mL	2,0 mL	2,0 mL
Ácido Pícrico (2)	0,5 mL	-----	0,5 mL

3. Homogeneizar e incubar a 37 °C por 10 minutos.

4. Fazer as leituras fotométricas do Padrão e do Teste em 510 nm ou filtro verde (500 a 540 nm), acertando o Zero de absorbância com o tubo Branco.

A primeira absorbância do tubo Teste será A_1 .

Acidificante (4)	0,1 mL	0,1 mL	-----
------------------	--------	--------	-------

5. Homogeneizar e esperar 5 minutos na temperatura ambiente.

6. Fazer nova leitura do tubo Teste em 510 nm ou filtro verde (500 a 540 nm), acertando o Zero de absorbância com o tubo Branco.

A segunda leitura do tubo Teste será A_2 .

Cálculos: Realizar os mesmos cálculos do Procedimento Direto.

3. PROCEDIMENTO CINÉTICO

Preparo do Reagente de Trabalho

De acordo com o consumo, misturar 1 volume de Ácido Pícrico (2) com 4 volumes de Tampão Alcalino (3).

Estável por 24 horas na temperatura ambiente, protegido da luz.

A. Condições de Reação

- Leitura: Comprimento de onda 510 nm (500 a 540 nm)
- Medida: Acertar zero de absorbância com água deionizada
- Tipo de Reação: Cinética colorimétrica de dois pontos

B. Técnica de Análise

1. Ajustar o Zero do fotômetro em 510 nm (490 a 520 nm) com água deionizada.

2. Termostatar o Reagente de Trabalho na temperatura de 37 °C.

A temperatura deve permanecer constante durante a realização do teste.

3. Pipetar na cubeta do aparelho: Reagente de Trabalho 1000 µL + 100 µL de amostra (soro ou urina diluída) ou Padrão.

4. Misturar e inserir no porta-cubetas termostatzado e acionar o cronômetro.

5. Fazer uma leitura fotométrica do Padrão (AP) e do Teste (AT) aos 30 segundos (A_{30}) e uma segunda leitura aos 90 segundos (A_{90}).

6. Calcular a diferença de absorbância entre 90 e 30 segundos ($A_{90} - A_{30}$) para o Padrão e para o Teste.

Cálculos

Ver Linearidade.

ΔA do Teste ou do Padrão = $A_{90} - A_{30}$

Como a metodologia obedece a lei de Lambert-Beer, pode-se efetuar os cálculos através do Fator de Calibração (FC).

$\Delta P = (A_{90} - A_{30})$ Padrão $\Delta T = (A_{90} - A_{30})$ Teste

CP = Concentração do Padrão em mg/dL = 4,0 mg/dL

CT = Concentração do Teste em mg/dL

$FC = CP \div \Delta P$

$CT = FC \times \Delta T$

Exemplo

Se A_{30} Padrão = 0,090 e A_{90} Padrão = 0,138

Se A_{30} Teste = 0,124 e A_{90} Teste = 0,136

$\Delta P = 0,138 - 0,090 = 0,048$ $\Delta T = 0,136 - 0,124 = 0,012$

CP = 4,0 mg/dL

FC = $CP \div \Delta P = 4,0 \div 0,048 = 83$

CT = $FC \times \Delta T = 83 \times 0,012 = 1,0$ mg/dL

CLAREAMENTO (DEPURAÇÃO) DA CREATININA

Instruir o paciente para que faça uma coleta correta da urina de 12 ou 24 horas.

O soro pode ser obtido em qualquer momento do período de coleta da urina. Dosar a creatinina do soro e da urina.

Aplicar os resultados obtidos na equação abaixo:

$$\text{Clareamento (mL/minuto)} = \frac{U}{S} \times VM$$

U = creatinina na urina (mg/dL)

S = creatinina no soro (mg/dL)

VM = volume minuto (Volume urinário de 24 h, em mL, dividido por 1440 min).

Observação: O clareamento deverá ser corrigido para a superfície corporal do paciente, que é obtida através de nomograma correlacionando peso-altura. Multiplicar o valor da depuração por 1,73 e dividir pela superfície corporal do paciente.

Exemplo: Creatinina na urina = 118 mg/dL Creatinina no soro = 1,2 mg/dL

Volume de 24 horas = 1680 mL Volume minuto = $1680/1440 = 1,17$ mL/min

$$\text{Clareamento} = \frac{118}{1,2} \times 1,17 = 115 \text{ mL/min}$$

Peso: 60 Kg Altura: 165 cm Superfície corporal: 1,66 m²

$$\text{Clareamento} = \frac{115 \times 1,73}{1,66}$$

Clareamento = 120 mL/minuto/1,73 m²

Conversão de Unidades: Unidade Convencional (mg/dL) x 88,4 = Unidade SI (µMol/L)

VALORES DE REFERÊNCIA

Soro ou Plasma mg/dL	Urina mg/Kg peso/24h	Clareamento da Creatinina mL/minuto/1,73 m ²
Homens: 0,7 a 1,2	Homens: 21 a 26	Homens: 97 a 137
Mulheres: 0,5 a 1,0	Mulheres: 16 a 22	Mulheres: 88 a 128

AUTOMAÇÃO

O procedimento cinético pode ser aplicado em analisadores automáticos e semi-automáticos.

O consumidor poderá solicitar mais informações através do Setor de Apoio ao Cliente (SAC) ou acessando o site www.goldanalisa.com.br

A calibração com o Padrão aquoso pode causar desvios em alguns analisadores. Nestes casos, recomenda-se calibrar com calibrador protéico - Calibrador - REF. 410 - Gold Analisa.

CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório clínico deve manter um Programa de Garantia da Qualidade para assegurar que todos os procedimentos laboratoriais sejam realizados de acordo com as Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Para controle e verificação do desempenho do kit podem ser utilizadas amostras controle com valores estabelecidos pelos fabricantes.

É importante que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores médios e os respectivos limites de variação.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO⁶

Linearidade: A reação é linear até 12,0 mg/dL. Para valores maiores, diluir a amostra com solução de NaCl 150 mmol/L (0,85%) e realizar uma nova determinação. Multiplicar o valor obtido pelo fator de diluição empregado.

Repetitividade: A imprecisão intra-ensaio foi calculada com 20 determinações sucessivas de creatinina, utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes. As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 2,0 e 4,1%.

Reprodutibilidade: A imprecisão inter-ensaio foi calculada com 20 determinações de creatinina em dias diferentes, utilizando 2 amostras de soro com concentrações diferentes. As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 2,8 e 3,9%.

OBSERVAÇÕES

1. A observação minuciosa da limpeza e secagem da vidraria, da estabilidade dos reagentes, da pipetagem, da temperatura e do tempo de reação é de extrema importância para se obter resultados precisos e exatos.

2. Na limpeza da vidraria pode-se empregar um detergente neutro ou uma solução ácida. A última lavagem deve ser feita com água destilada ou deionizada.

3. A água utilizada nos Laboratórios Clínicos deve ser purificada utilizando-se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, aminas e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Heinegard D. & Tiderstrom. Clin Chim Acta 1973; 43: 305-310.
2. Loken F. J Clin Lab Invest 1954; 6: 325-334.
3. Lopes HJJ, Baptista, JMA, Souza, MO. Rev Bras Anal Clin 1984; 16: 17-24.
4. Owen JA, Iggo B, Scandrett FF, Steward CP. Biochem J 1954;58:426.
5. Slot C. Scand J Clin Lab Invest 1965; 17:381.
6. GOLD ANALISA: Informe Técnico do Produto.

APRESENTAÇÃO

REF.	Nº de Testes	Reagentes	Volume
335	100 - Ponto Final	Padrão	1 x 10 mL
		Ácido Pícrico	1 x 50 mL
	250 - Cinético	Tampão Alcalino	1 x 200 mL
		Acidificante	1 x 10 mL

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

Lei nº 8.078 de 11-9-90 - Código de Defesa do Consumidor

A Gold Analisa garante a substituição, sem ônus para o consumidor, de todos os produtos que comprovadamente apresentarem problemas técnicos, desde que o usuário utilize equipamentos e materiais em boas condições técnicas, siga rigorosamente o procedimento técnico e as recomendações estabelecidas nas Instruções de Uso.

Nº do lote e data de validade: Vide Rótulos do Produto

Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16

AF MS Nº 800223-3 - Reg. MS - Nº 8002230143

Farm. Resp. José Gilmar Pereira Berto - CRF-MG 13421

Av. Nossa Senhora de Fátima, 2363 - Carlos Prates - Fone: (31) 3272-1888

Belo Horizonte MG Brasil CEP: 30710-020

Home page: www.goldanalisa.com.br

E-mail: goldanalisa@goldanalisa.com.br

Setor de Apoio ao Cliente (SAC): 0800 703 1888

Análisa é marca registrada da Gold Analisa Diagnóstica Ltda

SIMBOLOGIA			
	Número do catálogo		Limite de temperatura
	Número do lote		Quantidade de testes
	Produto para diagnóstico in vitro		Consultar as instruções de uso
	Data limite de utilização		Fabricado por
	Corrosivo		