

Método
Cinético.

Finalidade

Sistema para a determinação quantitativa da creatinina em amostras de soro ou plasma por reação cinética de tempo fixo.

Somente para uso diagnóstico in vitro.

Princípio

Cinética de tempo fixo: A creatinina e outros componentes presentes na amostra reagem com o pícrato em meio alcalino, formando 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 interferir. Assim, a determinação fotométrica do produto final fica livre de interferentes, referindo-se exclusivamente à creatinina presente na amostra.

Significado Clínico

Sintetizada principalmente no fígado e nos rins, a creatinina é produzida e excretada constantemente independente do grau de hidratação, da dieta, e metabolismo proteico. Essa constância na formação e excreção faz dela um marcador muito útil de função renal, principalmente da filtração glomerular.

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.

Níveis diminuídos podem ser observados: nas distrofias musculares, desnutrição diminuição da massa muscular, doença renal severa.

Reagentes

Reagente nº 1 - Tampão - Conservar entre 15° e 30°C. Contém: Carbonato de Sódio 75 mmol/L Hidróxido de Sódio 110 mmol/L.

Reagente nº 2 - Ácido Pícrico - Conservar entre 15° e 30°C. Contém: Ácido Pícrico 60 mmol/L.

Reagente nº 3 - Padrão - Conservar entre 15° e 30°C. Manter vedado para evitar evaporação. Contém: Creatinina 3,0 mg/dL.

Estabilidade e Condições de Armazenamento

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo do produto e na embalagem externa quando conservados na temperatura recomendada, bem vedados e se evitado a contaminação durante o uso. A temperatura de armazenamento deverá ser de 15° a 30°C.

Cuidados Especiais e Precauções

- As amostras a serem analisadas devem ser tratadas como material potencialmente infectante.
- Utilizar os EPI's de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico.
- As informações de Descarte, Segurança e Primeiros Socorros estão descritas na Ficha Individual de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) deste produto, disponível em www.bioanalitica.com.br ou pelo telefone 0800 006 8111.
- Reagentes de lotes diferentes não devem ser misturados.
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada.
- Não utilizar os reagentes quando se apresentarem turvos.
- Evitar deixar os reagentes fora das condições de armazenamento especificadas, quando os mesmos não estiverem em uso.
- O tempo de reação, pipetagens e temperatura de trabalho são muito importantes para obtenção de resultados corretos.
- Usar pipetas de vidro e ponteiras descartáveis específicas para cada amostra, controle, padrão/calibrador e reagente.

Materiais Necessários e Não Fornecidos

- Analizador bioquímico automático, semiautomático ou espectrofotômetro;
- Pipetas de vidro e/ou automáticas;
- Ponteiras, estantes;
- Tubos de ensaio;
- Cronômetro.

Amostra

Soro ou plasma com (EDTA, Heparina, Citrato, Fluoreto e Oxalato).

O analito é estável por 7 dias armazenado entre 2 e 8°C, quando livres de contaminação.

Na urina, o analito é estável por 4 dias entre 2 e 8°C. A amostra de urina de 24 horas e o líquido amniótico devem ser centrifugados e conservados entre 2 e 8°C.

Para descarte dos reagentes e materiais biológicos devem-se seguir as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

Interferências e Limitações

Concentrações de triglicérides até 1216 mg/dL, ácido ascórbico até 20 mg/dL e hemoglobina até 200 mg/dL não produzem interferências significativas. Valores bilirrubina maior que 5,15 mg/dL produzem interferências significativas nas amostras.

Procedimento Técnico

Preparo do Reagente de Trabalho

Misturar uma parte do Tampão (1) com uma parte do Ácido Pícrico (2). Armazenar em frasco âmbar bem fechado. O reagente é estável 24 horas entre 15 e 35°C. Homogeneizar o Reagente de Trabalho antes de iniciar a técnica.

Técnica Método Direto

Ajustar o comprimento de onda do fotômetro em 510 nm (490 a 520 nm) e acertar o Zero de absorbância com água deionizada. Certificar que as temperaturas do fotômetro e do Reagente de Trabalho estejam a temperatura de 37°C. Adicionar 0,1mL de Padrão ou Amostra a 1 mL de Reagente de Trabalho (previamente homogeneizado), misturar e transferir imediatamente para uma cubeta termostatizada a 37°C.

Medir as absorbâncias do Padrão e da Amostra em 510 nm, aos 30 e 90 segundos.

Dosagem na Urina

Anotar o volume colhido em mL, centrifugar uma alíquota da amostra de urina e diluir de 1:25 (0,1mL de urina e 2,4 mL de água destilada).

Em seguida, fazer a dosagem como na técnica descrita para soro ou plasma. Multiplicar o resultado obtido por 25.

Cálculos e Exemplos

ΔA do Padrão ou amostra = A_{90} segundos – A_{30} segundos

$$\text{Creatinina (mg/dL)} = \frac{\Delta A \text{ do Teste}}{\Delta A \text{ do Padrão}} \times 3$$

Exemplo:

$$\begin{aligned} A_{30} \text{ Teste} &= 0,115 & A_{30} \text{ padrão} &= 0,085 \\ A_{90} \text{ Teste} &= 0,135 & A_{90} \text{ padrão} &= 0,142 \end{aligned}$$

$$\text{Creatinina (mg/dL)} = \frac{0,135 - 0,115}{0,142 - 0,085} \times 3 = 1,053 \text{ mg/dL.}$$

Devido ao método apresentar grande reprodutibilidade, o Fator de calibração pode ser utilizado.

$$\text{Fator de calibração} = \frac{\text{Concentração do padrão (3 mg/dL)}}{\text{Absorbância do padrão}}$$

mg/dL = Absorbância da amostra x Fator de calibração

Exemplo:

$$\text{Fator de calibração} = \frac{3}{0,057} = 52,63$$

$$\text{Creatinina (mg/dL)} = 0,020 \times 52,63 = 1,053$$

$$\text{Creatinina na urina (mg/24h)} = \frac{\text{mg/dL}}{100} \times \text{Volume de 24h (mL)}$$

Depuração da Creatinina

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

Dosar a creatinina do soro e da urina e aplicar os resultados obtidos na equação abaixo:

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

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).

A depuração deverá ser corrigida 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:

Valor Creatinina urina = 115 mg/dL Valor Creatinina no soro = 1,5 mg/dL
 Volume de 24 horas = 1670 mL

Volume minuto = $1670/1440 = 1,16 \text{ mL/min}$

$$\text{Depuração} = \frac{115}{1,5} \times 1,16 = 88,9$$

$$\text{Peso} = 68 \text{ Kg} \quad \text{Altura} = 168 \text{ cm} \quad \text{Superfície corporal} = 1,77$$

$$\text{Depuração (corrigida)} = \frac{88,9 \times 1,73}{1,77} = 86,9 \text{ mL/min/1,73 m}^2$$

Características do Desempenho
Comparação de Métodos

O método foi comparado com outro produto com metodologia semelhante através de 40 amostras de soro humano. Através de modelos estatísticos, os resultados foram analisados e resultaram na equação de regressão linear onde Método Bioanalítica (y) = $-0,916 + 1,825 \times$ Método comparativo (x) e coeficiente de correlação igual a 0,991.

Sensibilidade

Uma amostra proteica não contendo Creatinina, foi utilizada para calcular o limite de detecção do ensaio. A média encontrada foi 0,0800 mg/dL equivalente a 20 determinações, com desvio padrão de 0,0100 mg/dL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde à média mais 3 vezes o desvio padrão, que é igual a 0,1100 mg/dL.

Linearidade

A reação é linear até 12 mg/dL. Para amostras com valores acima de 12 mg/dL, diluir a amostra com Cloreto de Sódio 0,85%, repetir a dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

Repetitividade

A repetitividade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mg/dL)	0,22	0,94	2,12
Desvio Padrão (mg/dL)	0,01	0,01	0,02
Coeficiente de Variação (%)	3,62	0,72	0,98

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mg/dL)	0,29	1,05	2,34
Desvio Padrão (mg/dL)	0,01	0,02	0,13
Coeficiente de Variação (%)	2,46	2,13	5,77

Valores de Referência

Estes valores de referência devem ser usados apenas como orientação. Sugere-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores para população atendida. Os resultados dos testes devem ser analisados por um profissional responsável.

Soro /Plasma	Adultos	0,4 – 1,4 mg/dL
	3 a 5 anos	0,26 – 0,42 mg/dL
	7 a 9 anos	0,34 – 0,45 mg/dL
	13 a 15 anos	0,46 – 0,81 mg/dL
Urina	Adulto Masculino	1500 – 2500 mg/24h 21 – 26 mg/kg/24h
	Adulto Feminino	800 – 1500 mg/24h 16 – 22 mg/kg/24h
	Criança 2 a 3 anos	6 – 22 mg/kg/24h
	Criança >3 anos	12 – 30 mg/kg/24h
Depuração da Creatinina	Adulto Masculino	97 – 137 mL/min/1,73 m ²
	Adulto Feminino	88 – 128 mL/min/1,73 m ²
	Crianças	70 – 140 mL/min/1,73 m ²

Para converter os valores de mg/dL em mmol/L (SI) multiplicar por 0,0884.

Controle Interno da Qualidade

O laboratório clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, para assegurar que todos os procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente definidos. Ressaltamos que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica, que deve ser monitorada pelos laboratórios. Portanto, é recomendável a

utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens. Sugere-se utilizar soluções estabilizadas da linha de controles e calibradores da Bioanalítica.

Observações

- A limpeza e secagem adequadas do material usado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes. A limpeza da vidraria deve ser feita com detergente neutro. O enxágue deve ser exaustivo sendo os últimos com água destilada ou deionizada.
- A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, a água deve ser do Tipo II, com resistividade > 1 megaohms/cm ou condutividade < 1 microsiemens/cm e concentração de silicatos < 0,1 mg/L. Para o enxágue inicial da vidraria, a água pode ser do Tipo III, com resistividade > 0,1 megahoms ou condutividade < 10 microsiemens.

No enxágue final, utilizar água do Tipo II. Coluna deionizadora com sua capacidade saturada libera água alcalina, vários íons e também substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando de maneira imprevisível os resultados. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

Referências Bibliográficas

- Slot C. Sand J. Clin Lab Invest 1965; 17:381.
- Heinegard D., Tiderstrom. Clin Chim Acta 1973; 43: 305-310.
- Cook JGH. Clin Chim Acta 1971; 32:485 - 486.
- JAFFE, M.: J. Physiol. Chem. 10:381, 1886.
- TODD, SANFORD, DAVIDSOHN: Diagnósticos Clínicos, 16 Ed., Editora Manole, 1983.
- HENRY, R. J.: Clinical Chemistry - Principles and Technics, Ed., Harper and Row. New York, 1964.
- Ceriotti F, Boyd JC, Klein G et all. Clin Chem 2008; 54: 559 - 566.
- CARL, AB. and EDWARD, RA.: Tietz Textbook of Clinical Chem 2 nd ed., 1994, 1531 - 1539.
- Bioanalítica: Dados internos de arquivo do P&D.

Termos e Condições de Garantia

A Bioanalítica Diagnóstica garante o desempenho e a qualidade deste produto, dentro das especificações, até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que utilizados, armazenados e transportados nas condições adequadas.

Apresentações

Ref.	Volume	Reagente 1	Reagente 2	Reagente 3
BA124-200	200 mL	1 x 100 mL	1 x 100 mL	1 x 3 mL
BA124-400	400 mL	2 x 100 mL	2 x 100 mL	1 x 3 mL

Bioanalítica Diagnóstica S/A.

Rua Álvares da Silva, 12 - União

CEP: 31160-360 – Belo Horizonte MG - Brasil

Tel. +55 31 3657-0051

www.bioanalitica.com.br

E-mail: bioanalitica@bioanalitica.com.br

CNPJ: 20.264.948/0001-61 – Indústria Brasileira

SAC: 0800 006 8111

E-mail: sac@bioanalitica.com.br

Revisão: Outubro / 2022.