

Ref. BA121

MS 81666810033

Método

Colorimétrico.

Finalidade

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

Somente para uso diagnóstico in vitro.

Princípio

Colorimétrico de Ponto Final

A creatinina e outros componentes presentes na amostra reagem com o pícrato em meio alcalino, formando um complexo colorido que é medido fotometricamente.

A adição de um acidificante abaixa o pH para 5,0 decompondo o pícrato de creatinina, permanecendo a cor derivada dos cromogênios que também é medida fotometricamente.

Cinético 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.

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. O reagente em baixas temperaturas pode apresentar turvação; para eliminá-la aquecê-lo a 37°C. Homogeneizar antes de usar. Contém: Hidróxido de Sódio 110 mmol/L, Carbonato de Sódio 75 mmol/L e surfactante. (pH 12,50).

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

Reagente nº 3. Padrão: Conservar entre 15 e 30°C. Após o manuseio, conservar na geladeira entre 2 e 8°C para evitar evaporação. Contém: Creatinina 3 mg/dL.

Reagente nº 4. Acidificante: Conservar entre 15 e 30°C. Contém: Ácido Acético 12,25 mol/L.

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.
- Os reagentes, tampão e acidificante, são corrosivos. Evite contato com os olhos, pele e mucosa. No caso de contato, lave imediatamente com água em abundância e procure auxílio médico.
- 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.
- O nível de água do banho-maria deve ser superior ao dos tubos de ensaio que contém as reações.

Materiais Necessários e Não Fornecidos

- Espectrofotômetro ou fotômetro para leitura em 510 nm (500 - 540);
- Banho-maria, termostatizado a 37°C.

- Pipetas de vidro e/ou automáticas;
- Tubos de ensaio;
- Cronômetro.

Amostra

Soro ou plasma (EDTA/ Heparina/Fluoreto). O analito é estável por 7 dias armazenado entre 2 e 8°C. Na urina, o analito é estável por 4 dias entre 2 e 8°C. A amostra de urina de 24 horas deve ser conservada entre 2 e 8°C. A urina deve ser resfriada durante o período de coleta até o momento da dosagem. Para descarte dos reagentes e materiais biológicos devem-se seguir as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

Interferências e Limitações

Aspirina administrada para ação anti-inflamatória induz valores aumentados de creatinina. Dieta vegetariana produz valores mais baixos.

Exercícios físicos elevam os valores de creatinina.

Concentrações de bilirrubina até 17 mg/dL e triglicérides até 855 mg/dL e ácido ascórbico até 20 mg/dL não produzem interferências significativas.

Valores de hemoglobina maior que 279 mg/dL e produzem interferências significativas nas amostras.

Procedimento Técnico

Método Ponto Final

Identificar 3 tubos de ensaio: B (Branco), T (Teste), P (Padrão) e proceder como a seguir:

Reagentes	Branco	Teste	Padrão
Tampão (1)	2,0 mL	2,0 mL	2,0 mL
Água Destilada	0,25 mL	-----	-----
+Amostra	-----	0,25 mL	-----
Padrão (3)	-----	-----	0,25 mL
Ácido Pírico (2)	0,5 mL	0,5 mL	0,5 mL

Homogeneizar bem e colocar em banho-maria 37°C por 10 minutos.

Ler a absorbância da Amostra e do Padrão em 510 nm (500 - 540 nm), acertando o zero com o Branco. A absorbância do teste será A₁.

Reagente	Branco	Teste	Padrão
Acidificante (4)	0,1 mL	0,1 mL	-----

Homogeneizar e deixar a temperatura ambiente por 5 minutos. Ler a absorbância da Amostra em 510 nm (500 - 540 nm), acertando o zero com o Branco. A cor é estável por 30 minutos. A absorbância do teste será A₂.

Dosagem na Urina

Anotar o volume colhido em mL, centrifugar uma aliquote da amostra de urina a ser dosada e proceder uma diluição de 1:25 (0,1 mL de urina e 2,4 mL de água destilada). Em seguida, fazer a dosagem como na técnica descrita acima. Multiplicar o resultado obtido por 25.

Cálculos

$$\text{Creatinina (mg/dL)} = [(A_1 - A_2) \div \text{Absorbância do Padrão}] \times 3$$

$$\text{Fator de Calibração} = \text{Concentração do Padrão} \div \text{Absorbância do Padrão}$$

Exemplo com Padrão

$$A_1 = 0,108$$

$$A_2 = 0,045$$

$$\text{Absorbância do Padrão} = 0,265$$

$$\text{Creatinina} = [(0,108 - 0,045) \div 0,265] \times 3 = 0,71 \text{ mg/dL}$$

Exemplo com Fator de Calibração

$$Fc = 3 \div 0,265 = 11,32$$

$$\text{Creatinina} = (0,108 - 0,045) \times 11,32 = 0,71 \text{ mg/dL}$$

Método Cinético de Tempo Fixo

Preparo de Reagente de Trabalho

Misturar uma parte do Ácido Pírico (2) com quatro partes do Tampão (1). Armazena em frasco âmbar. Estável 24 horas entre 15 e 30°C. Homogeneizar o Reagente de Trabalho antes de iniciar a técnica.

Procedimento da Reação

Identificar dois tubos como Teste e Padrão.

Adicionar 1 mL de Reagente de Trabalho (previamente homogeneizado) e 0,1 mL de Padrão ou Amostra (soro, plasma ou urina), homogeneizar e transferir imediatamente para uma cubeta termostatizada a 37°C. Medir as absorbâncias do Teste e do Padrão em 510 nm (500 - 540 nm) aos 30 e 90 segundos. As leituras serão T₃₀, T₉₀ e P₃₀, P₉₀. Calcular diferença de absorbância entre 90 e 30 segundos (A₉₀ - A₃₀) para o Padrão e para o Teste.

Ref. BA121

MS 81666810033

Cálculos

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{3}{P90 - P30} = \frac{3}{0,136 - 0,088} = \frac{3}{0,048} = 62,5$$

$$\text{Creatinina (mg/dL)} = T_{90} - T_{30} \times \text{Fator Calibração} \quad 0,147 - 0,123 \times 62,5 = 1,5$$

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 soro = 1,5 mg/dL

Volume de 24 horas = 1670 mL

Volume minuto = 1670/1440 = 1,16 mL/min

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

Peso = 68 Kg Altura = 168 cm Superfície corporal = 1,77

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

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) = $0,108 + 0,916x$ Método comparativo (x) e coeficiente de correlação igual a 0,993.

Sensibilidade

Uma amostra proteica não contendo Creatinina, foi utilizada para calcular o limite de detecção do ensaio. A média encontrada foi 0,0300 mg/dL equivalente a 20 determinações, com desvio padrão de 0,0084 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 0,0553 mg/dL.

Linearidade

A reação é linear até 10 mg/dL. Para amostras com valores acima de 10 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)	0,37	0,80	9,60
Desvio Padrão (mg/dL)	0,02	0,03	0,18
Coeficiente de Variação (%)	5,78	3,53	1,90

Reprodutibilidade

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

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mg/dL)	0,16	1,29	5,43
Desvio Padrão (mg/dL)	0,01	0,06	0,12
Coeficiente de Variação (%)	5,12	4,46	2,15

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.

Adultos

0,4 – 1,4 mg/dL

Soro /Plasma

0,26 – 0,42 mg/dL

3 a 5 anos

0,34 – 0,45 mg/dL

7 a 9 anos

0,46 – 0,81 mg/dL

13 a 15 anos

1500 – 2500 mg/24h
21 – 26 mg/kg/24h

Adulto Masculino

800 – 1500 mg/24h
16 – 22 mg/kg/24h

Adulto Feminino

Criança 2 a 3 anos

6 – 22 mg/kg/24h

Criança >3 anos

12 – 30 mg/kg/24h

Adulto Masculino

97 – 137 mL/min/1,73 m²

Adulto Feminino

88 – 128 mL/min/1,73 m²

Crianças

70 – 140 mL/min/1,73 m²

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. Phisiol. 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.
- Cerotti 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.

Apresentação

Ref.	Volume	Reagente 1	Reagente 2	Reagente 3	Reagente 4
BA121-250	250 mL	1 x 200 mL	1 x 50 mL	1 x 10 mL	1 x 10 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.