



QUIMICREA - Creatinina Picrato Alcalino

Finalidade:

Reação cinética para determinação quantitativa de creatinina em amostras de soro, plasma e urina humanos. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

Princípio:

A reação de Jaffé está sujeita a interferências, por uma série de substâncias, incluindo a proteína e glicose. Modificações do procedimento foram desenvolvidas para combater essa desvantagem. Os procedimentos cinéticos tornaram-se populares por causa de sua rapidez, simplicidade e a vantagem de evitar interferências. Este método está baseado em uma modificação do procedimento, incorporando o surfactante e outras substâncias a fim de minimizar a interferência de proteína e de carboidratos. Temos então a reação:

Meio Alcalino

Creatinina + Sódio ----->Complexo Creatinina Picrato

A Creatinina reage com ácido picrico em condições alcalinas, formando um complexo de cor lido a 510 nm. A razão de formação da cor é proporcional a creatinina na amostra.

Metodologia:

Reação de Jaffé modificado

Significado Clínico:

A Creatinina é eliminada do plasma por filtração glomerular e não é reabsorvida nos túbulos em grau significativo, resultando em uma velocidade de depuração mais elevada do que a da uréia, cuja reabsorção nos túbulos atinge, em condições normais, 40% do que é filtrado nos glomérulos. Além disso, quando os níveis de creatinina no plasma ultrapassam seu valor normal, o rim pode eliminar essa substância por excreção tubular ativa. Por conseguinte, as elevações da taxa de creatinina no sangue são, em geral, mais tardias do que as de uréia.

Reagentes:

Reagente único pronto para uso, conservar entre 2 - 8°C e mantê-lo ao abrigo da luz.

Contém: Ácido picrico 10 mmol/L, solução de hidróxido de sódio 250 mmol/L, estabilizadores não reativos e filtros em pH 7.5 +/- 0.1.

Padrão (cód 3004): Conservar entre 2 - 30°C. Solução aquosa com concentração de creatinina rastreável ao método de referência proposto pelo CLSI. Verifique a concentração do padrão no rótulo do frasco.

Os reagentes não abertos são estáveis até a data de vencimento impressa no rótulo do produto e on board (em um compartimento refrigerado do analisador) possuem estabilidade de aproximadamente 5 dias. Em alguns analisadores que não apresentam boa vedação nos discos de reagentes, após 24 horas é possível observar uma discreta queda nos resultados. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminação de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

Precauções e Cuidados Requeridos:

Este reagente deve ser usado somente para diagnóstico "in vitro". O ácido picrico é um agente fortemente oxidante. Evite contato com a pele. No caso de contato, lavar com água em abundância. Uma vez evaporado, o ácido picrico é explosivo. Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos. Não usar o reagente se estiver visualmente turvo (contaminado), se a absorvância do branco ultrapassar 0,330 (convertido para 1,0 cm de espaço ótico) quando medido em 500-510nm ou se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco.

A estabilidade do reagente de creatinina (Picrato Alcalino) é reduzida de modo imprevisível quando mantido em frasco aberto fora da temperatura de armazenamento.

Material Necessário não Fornecido:

- Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorvância em 510 nm (505-515 nm).
- Pipetas para medição de amostras e reagente.
- Água destilada/deionizada.
- Consumíveis do analisador quando usado.
- Soros Controle e Calibrador.
- Medidor de tempo.

Amostra:

Soro: Amostras de soro livre de hemólise. A creatinina no soro é estável por 7 dias se estiver refrigerado à temperatura de 2 - 8°C. Para períodos mais prolongados, congelar a amostra (-20°C).

Plasma: Amostras de plasma devem ser colhidas em tubo com heparina, EDTA, fluoreto, oxalato, citrato.

Urina: É recomendada uma diluição de 1:25. Amostras de urina são estáveis por 7 dias a 4°C.

Todas as amostras e controles são considerados potencialmente infectantes, portanto sugerimos manuseá-las seguindo as normas

estabelecidas de Biossegurança.

Preparo do Paciente:

Para amostras de soro é recomendado que o paciente faça jejum de 4 horas.

Depuração: Orientar o paciente para que faça a coleta correta da urina de 24 horas e a coleta do soro pode ser realizada em qualquer horário durante este intervalo.

As recomendações poderão ser modificadas segundo orientação médica.

Interferências:

Bilirrubina até 24.3 mg/dL, hemoglobina até 200 mg/dL e lipemia (triglicérides) até 1020 mg/dL não interferem significativamente no resultado. Algumas drogas e substâncias afetam a concentração da creatinina, sugerimos consultar Young et al.

Parâmetros do Sistema:

Temperatura: 37°C
Comprimento de Onda: 510 nm (505-515 nm)
Tipo de Reação: Cinética
Direção: Crescente
Relação Amostra/Reativo: 1:10
Vol. Amostra: 100µL
Vol. Reagente: 1.0 mL
Tempo de Incubação: 60 segundos (retardo).
Intervalo de Leitura: 120 segundos
Nº de intervalos: 1

Calibração:

Utilizar Quimicalib Ebram Cód. 7023/12023 ou o padrão que acompanha o kit do código 3004. A concentração de creatinina no calibrador e no padrão são rastreáveis ao método de referência proposto pelo CLSI.

Procedimento Automatizado:

Aplicação no sistema automatizado: vide manual para utilização do equipamento e instruções de uso do reagente.

Aplicação no sistema semi-automático: proceder como demonstrado a seguir no procedimento manual somente até o item 1 (preparação dos tubos), em seguida utilizar o equipamento para leitura, seguindo protocolo analítico específico baseado no item Parâmetros do Sistema.

Nota: Adicionar as amostras no tubo somente no momento que antecede a aspiração do equipamento.

Procedimento Manual:

1. Separar 3 tubos de ensaio e realizar os procedimentos conforme abaixo:

	Branco	Padrão	Amostra/S.C.
Água destilada	100µL	-	-
Padrão	-	100µL	-
Amostra/S.C.	-	-	100µL
Reagente	1,0mL	1,0 mL	1,0 mL

Nota: Realizar a incubação das amostras, padrão e soro controle (S.C.) individualmente.

2. Colocar 1,0 mL do reagente em cada tubo e deixar em banho-maria (BM) a 37°C por 60 segundos. O nível de água no BM deve ser superior ao nível de reagentes nos tubos de ensaio.

3. Zerar o espectrofotômetro a 510 nm (505 - 515 nm) com o branco.

4. Cuidadosamente, adicionar 100µL do padrão no tubo correspondente, homogeneizar e incubar em BM a 37°C. Acionar o cronômetro.

5. Registrar as absorvâncias, inicial (A1) aos 60 segundos de incubação e final (A2) aos 180 segundos. Proceder em seguida do mesmo modo com os soros controle e as amostras.

Obs.: Procedimento sugerido para espectrofotômetros que requerem volume mínimo de 1,0 mL e podem ser ajustados proporcionalmente sem influência no desempenho do teste. Salientamos que volumes de amostra menores do que 10 µL aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

Cálculos:

(Abs. = Absorvância) / (Conc. = Concentração) / (Δ Abs. / min = A2 - A1)

Método não compensado
Creatinina da Amostra (mg/dL) = $\frac{\Delta \text{ Abs /min (amostra)}}{\Delta \text{ Abs /min (padrão)}} \times \text{Conc. do Padrão (mg/dL)}$

Método compensado
Creatinina da Amostra (mg/dL) = $\frac{\Delta \text{ Abs /min (amostra)}}{\Delta \text{ Abs /min (padrão)}} \times \text{Conc. do Padrão (mg/dL)} - 0,37$

Cálculo para Urina de 24 horas:
Urina = Creat. Amostra(g/L) X fator diluição X Volume (L)

Obs.: g/L = mg/dL x 0,01

DEPURAÇÃO DA CREATININA ENDÓGENA

Depuração (mL/min) = $\frac{U}{S} \times \frac{1,73}{A}$

U = creatinina na urina (mg/dl)

S = Creatinina no soro (mg/dl)

1,73 = superfície corporal padrão

A = valor de superfície corporal do paciente (m²) - obtido através do nomograma correlacionando peso (kg) e altura (cm).

VM = volume urinário em 24 horas (ml)

1440 (tempo de coleta em minutos)

Exemplo:

Δ Abs /min(amostra) = 0,01
Δ Abs /min(padão) = 0,05
Conc. padrão = 5,0 mg/dL
Volume urinário 24 hs = 1,25L
OBS : g/L = mg/dl x 0,01
Creatinina Amostra = (0,01 / 0,05) x 5,0 = 1,0 mg/dl
Creatinina Amostra = 1,0 mg/dl = 0,01 g/L
Creatinina na Urina = 0,01 x 25 x 1,25
Creatinina na Urina = 0,32 g/24hs

Linearidade:

Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 20 mg/dL. Amostras com valor superior a 20 mg/dL devem ser diluídas com NaCl a ponto de ficarem entre 0,1 - 20 mg/dL e os resultados devem ser multiplicados pelo fator de diluição.

Controle de Qualidade:

Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e ações corretivas. Deve-se manter também um sistema definido para se monitorar a variação analítica do sistema de medição. Aconselhamos o uso dos soros controle Quimicontrol Normal e Quimicontrol Anormal Ebram Cód. 7024/12024 e 7031/12031.

Valores Esperados:

	Método não compensado	Método compensado
Homens:	0,7 - 1,4 mg/dL	0,5 - 1,3 mg/dL
Mulheres:	0,6 - 1,2 mg/dL	0,5 - 1,0 mg/dL

Urina = 0,6 - 1,6 g/24 h (600 - 1600 mg/24 h)

Estes valores são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

Estudos Comparativos:

Estudos executados entre este procedimento e uma metodologia similar produziram os seguintes resultados estatísticos:

Número de Amostras:	30
Intervalo dos resultados	0 - 5,7
Coefficiente de Correlação:	0,998
Inclinação:	0,98
Intercepta:	0,03 (mg/dL)

Precisão:

Estudos de precisão foram executados com dois níveis (normal e patológico) sendo que cada amostra fora processada por 10 vezes e os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=10	Nível 1	Nível 2
Média (mg/dL)	1,8	7,3
D.P. (mg/dL)	0,03	0,05
C.V. (%)	1,66	0,7

Exatidão:

As amostras foram processadas por 10 dias consecutivos, uma vez por dia e em duplicata. Os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=10	Nível 1	Nível 2
Média (mg/dL)	1,74	7,19
D.P. (mg/dL)	0,08	0,15
C.V. (%)	4,6	2,08

Sensibilidade Metodológica:

0,1 mg/dL

Especificidade:

Como as amostras foram selecionadas aleatoriamente em pacientes de ambulatório e hospitalizados, pode-se inferir que o método tem uma especificidade metodológica adequada.

Observações:

- A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
- A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade ≥ 1 megaohm ou condutividade ≤ 1 microsiemens e concentração de silicatos < 0,1 mg/L (água tipo II). Para o enxágue da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade ≥ 0,1 megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágue final utilizar água tipo II.

Apresentação:

Linha Bioquímica Geral: 1 x 200mL + 1 x 1,0mL

Linha Hitachi 917: 3 x 65mL

Linha Bulk: 1 x 500mL

Linha Quimisaat 450: 9 x 20mL

Para mais informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM - tel. (011) 2291-2811, sac@ebram.com ou www.ebram.com.

Referência Bibliográfica:

- Tilzer L.L., Jacobs D.S. "Laboratory Test Handbook", 3rd. Ed. Lexi Comp Inc. p. 202 (1994)
- Jaffe, M., Z. Physiol Chem. 10:391 (1886).
- DiGiorgio, J., Clinical Chemistry; Principles and Technics, 2nd. Ed. Edited by Henry, R.J., et al. Hagerstown (MD), Harper & Row, pp. 54:1:553 (1974)
- Cook, J.G.H. Ann. Clin Biochem, 12:219 (1975)
- Arquivos da EBRAM.



APLICAÇÃO PARA COBAS MIRA

GENERAL	
Measurement Mode:	ABSORB
Reaction Mode:	R-S
Calibration Mode:	Calibrator (Slope AVG)
Reagent Blank:	Reagent
Cleaner:	Before
Wavelength:	500 nm
Decimal Position:	1
Unit:	mg/dl
ANALYSIS	
Dilution Name:	STD
Factor:	Main STD
Time:	Sample Dil Name: H2O
Post Dil Factor: 2.00	Conc. Factor: No
Sample:	Cycle: 1
Volume:	Dil: 40ul
Reagent:	Cycle: 1
Volume:	200ul
Start Reagent 1:	Cycle:
Volume:	Dil:
Start Reagent 2:	Cycle:
Volume:	Dil:
CALCULATION	
Sample Limit:	No
Point:	
Reaction Direction:	Increase
Check:	On
Conversion Factor:	1.0000
Offset:	0.0000
Test Range Low:	0.1
High:	20.0
Norm Range Low:	0.6
High:	1.4
Number of Slats:	1
Calculation Slope A:	Kinetic
Readings First:	2
Last:	6
Reaction Limit:	No
Point:	
Calib Interval:	On Request
CALIBRATION	
Reagent Blank:	
Reagent Range:	
Reagent Range Low: -0.0210	Blank Range Low: -0.0030
High: 0.3200	High: 0.0222
Factor:	
Calibrator Pos:	(*)
STD1:	STD2:
STD3:	STD4:
STD5:	STD6:
STD7:	STD8:
Calc Model:	
Correction STD:	
Replicate:	Duplicate
Deviation:	5%
CONTROL	
CS1 - Pos (*) Assay (***) Low (**) High (**)	
CS2 - Pos (*) Assay (***) Low (**) High (**)	
CS3 - Pos (*) Assay (***) Low (**) High (**)	
(*) Colocar a posição correspondente do Rack CAL/CS.	
(**) Colocar o valor correspondente do calibrador.	
(***) Colocar o valor correspondente do seu controle.	

APLICAÇÃO PARA EXPRESS 550

Test Name: Creatinina	Test: CREA			
Test Bar Code:				
Test Type: Kinetic	Curve Type: Blanket Linear			
Units: mg/dl	Nº of Decimal Places: 1			
Primary Wavelength: 510	Secondary Wavelength: 600			
Read Time Interval: 30	Sample Blank: No			
Factor:				
Calibration Interval: 999				
Normalization Interval:				
Nº of Calibrators: 2	Nº of Replicates: 2			
Low Blank A Limit: 0.010	High Blank A Limit: 0.650			
Low A Limit: 0.000	High A Limit: 2.000			
Low Normal: 0.6	High Normal: 1.4			
Linearity Limit: 20	Curve S.D Limit: 0.500			
Test Name: Creatinina	Test: CREA			
Test Bar Code:				
Sample Volume: 25ul	Sample Diluent:			
Reagent Dilution Ratio: 2	Predilution Ratio: 1			
Reagent Dilution:				
Reagent 1	Reagent Volume	Bar Code	Diluent Volume	Lag Time
Reagent 2	275	Z11A		90sec
Reagent 3				
Reagent 4				
Controls:				

APLICAÇÃO PARA SELECTRA

Name:	Creatinina
Abbr Name:	CREA
Mode:	Two point
Wavelength:	505 nm
Units:	mg/dl
Decimals:	2
Low Conc:	0
High Conc:	20
Calibrator Name:	*
Repeat:	2
Number:	1
Concentration:	**
Interval:	*
Cut off:	NO
Prozone Check:	NO
Ref Male Low:	0.6
Ref Male High:	1.4
Ref Female Low:	0.6
Ref Female High:	1.2
Ref Pad Low:	*
Ref Pad High:	*
Control 1:	*
Control 2:	*
Control 3:	*
Comstat Factor:	1.000
Comstat Offset:	0.000
DUAL MODE	
Name:	Creatinina
Sample Blank:	NO
R1 Bottle:	25 ml
Normal Volume:	220ul
Reagent Volume:	232ul
SAMPLE	
Normal Volume:	22ul
Reagent Volume:	10ul
R2 Bottle:	5ml
Normal Volume:	0
Reagent Volume:	0
Predilution:	NO
Slope Blank:	
Delay Min Time:	
Linearity Limit:	
Point One, Two:	77.130 sec
Incubation Time:	
Low Absorbance:	-0.100
High Absorbance:	3.000
R ABS L Limit:	-0.100
R ABS H Limit:	0.400
Substr Depletion:	
Reagent Blank:	3.000
R ABS Deviation:	YES #
Cal Low Limit:	*
Cal High Limit:	*
Factor:	#
MONO MODE	
Name:	Creatinina
Sample Blank:	NO
R1 Bottle:	25 ml
Normal Volume:	220ul
Reagent Volume:	232ul
SAMPLE	
Normal Volume:	22ul
Reagent Volume:	10ul
Delay Min Time:	
Linearity Limit:	
Predilution:	NO
Incubation Time:	70.129 sec
Point One, Two:	
Low Absorbance:	-0.100
High Absorbance:	3.000
R ABS L Limit:	-0.100
R ABS H Limit:	0.400
Substr Depletion:	
R ABS Deviation:	3.000
Reagent Blank:	YES
Cal Low Limit:	*
Cal High Limit:	*
Factor:	#
(*) Dados colocados pelo usuário	
(**) Colocar o valor correspondente do calibrador	
(***)	
(#) Dados calculados pelo analisador.	

APLICAÇÃO PARA BTR 810

Name:	Creatinina
Point Final:	mg/dl
Units:	mg/dl
Mode:	500
Filter:	60
Tempo Estab:	60
Factor:	
Tempo de Incubação:	
Tempo de Interação:	
Nº de Interações:	
Temperatura:	37°C
Volume Amostrado:	400
Tempo Resposta:	Crescente
Estabilidade:	**

APLICAÇÃO PARA QUICK LAB

Mode:	Clítico
Leitura:	Macroscópica
Filtro:	500
Temperatura:	37°C
Volume Amo:	400
Unidade:	mg/dl
Limite Lin:	20
Inclinação:	Crescente
Cálculo:	Padrão
Padrão:	**
Factor:	
Delay Inicial:	60
Quant Injery:	1
Tempo Intery:	120
Tempo Estab:	60

APLICAÇÃO PARA BIO 2000

Mode:	T.F.
WLI:	505
Blank:	Não
Blk Area Pad:	
Tempo:	37°C
Vol Amostr:	0400
Rei:	030
Padrão:	Sim
Padr:	Única
Padr:	**
Unit:	mg/dl
Dec:	1
Int Clin:	120
nº Inj:	
AMIN:	
%Lim Lin:	
Dir:	Increase
Lim Lin - Min/Max:	0.000 / 0.020
Abs. Real - Min/Max:	0.000 / 2.000
Abs. Pad - Min/Max:	0.000 / 2.000
Vol'n - Min/Max:	0.6 / 1.4

APLICAÇÃO PARA RA-XT

Name:	CREAT
Immunosay:	NO
Chemistry Type:	FIRST ORDER
BioType:	
Immuno Chemistry:	NO
% Sample Volume:	60 (30ul)
Wavelength:	500
Biochemical Chemistry:	NO
Biochemical Factor:	
K1:	
K2:	
Bio Limit 1:	
Bio Limit 2:	
Deviation Limit:	
Delay Time:	0.30
Blank Type:	
Incubation:	1.00
% Reagent Volume:	60 (30ul)
2nd Reagent:	No
2nd Reagent Volume:	
A2 Delay:	
Units:	mg/dl
Unit Factor:	1.0000
Decimal Point:	1
RBL Low:	0.000
RBL High:	0.500
Range Low:	0.1
Range High:	20.0
Calibration Factor:	(*)
Reagent Rate:	0
Standard Value:	(**)
Normal Low:	0.6
Normal High:	1.4
Slope:	1.000
Intercept:	0.0000
C1*10E-6:	
C2*10E-6:	
D1*10E-6:	
Delta R:	
Linear Factor:	2.80
Final Limit:	0.0400
Endoint Limit:	
(*) Colocar 1 como valor inicial. O valor de CAL FACT é determinado pelo ensaio de calibração.	
(**) Colocar o valor correspondente do calibrador	

APLICAÇÃO PARA AIRONE

Measure Unit:	mg/dl	Decimals: 1	Reaction Type:	Kinetic
Volume (µl):	Serum: 40	Plasma: -	Urine: 40	
	Reagent 1: 400	Reagent 2: -		
Abs Range (m Abs):	Min: 0	Max: 2.000	Reagent Blank:	Yes
Linearity Limit:	20.00	Differential:	No	
Contaminating:	No	Filter 2:	None	
Filter 1:	510			
Time (sec):	Mix 1: 2.00	Incubation 1: 40	Lag Phase:	5
	Mix 2: 0.00	Incubation 2: 0	Measure:	90
Measurement Type:	Standard	Factor:	0.00	
Normal Range				
		Homens	Mulheres	
Age (yrs)	Min.	Max.	Min.	Max.
Below 10:				
From 10 to 80:	0.7	1.4	0.6	1.2
Over:				

Ebram Prods. Laboratoriais Ltda@.
 Rua Júlio de Castilhos, nº 500 - Belenzinho
 São Paulo - SP - Cep: 03059-001
 Tel.: (11) 2291-2811
 Indústria Brasileira
 CNPJ.: 50.657.402/0001-31
 www.ebram.com
 sac@ebram.com
 SAC.: (11) 2291-2811
 Resp.Téc.: Nadjara Novaes Longen
 CRF-SP - 37.451
 Nº do Reg. MS: 10159820104
 Edição: Out/18

Disponemos de programações para outros analisadores, entre em contato com SAC EBRAM.