

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMICREA - CREATININA	Página 1 de 4 POPBIOxxx/xx
-------------------------------	---	-------------------------------

## USO

Reação cinética para determinação quantitativa de creatinina em amostras de soro, plasma e urina. 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 pícrico 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 ureia, 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 ureia.

## PRODUTO UTILIZADO

QUIMICREA - CREATININA MS: 10159820104

Fabricante: Ebram Produtos Laboratoriais Ltda.

Rua Julio de Castilhos, 500.

Belenzinho – São Paulo –SP – Brasil - CEP: 03059-001

Para maiores informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM:

Tel. (011) 2291-2811 ou [sac@ebram.com](mailto:sac@ebram.com)

## REAGENTES

Reagente único pronto para uso, conservar entre 2 – 8°C e mantê-lo ao abrigo da luz. Contem: Acido pícrico 10 mmol/L, solução de hidróxido de sódio 250 mmol/L, estabilizadores não reativos e filtros em pH 7.5 +/- 0.1.

Padrão (cod 3004): Conservar entre 2 – 30°C. Solução aquosa com concentração de creatinina rastreável ao método de referencia proposto pelo CLSI. Verifique a concentração do padrão no rotulo do frasco.

Os reagentes não abertos são estáveis ate a data de vencimento impressa no rotulo 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, apos 24 horas e 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 ESPECIAIS

Este reagente deve ser usado somente para diagnóstico "in vitro".

O ácido pícrico é um agente fortemente oxidante. Evite contato com a pele. No caso de contato, lavar com água em abundância. Uma vez evaporado, o ácido pícrico é explosivo.

<b>Inserir o nome do Laboratório</b>	<b>Procedimento Operacional Padrão QUIMICREA - CREATININA</b>	<b>Página 1 de 4 POP BIOxxx/xx</b>
--------------------------------------	---	--

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 absorbância 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) e reduzida de modo imprevisível quando mantido em frasco aberto fora da temperatura de armazenamento.

### AMOSTRA

Soro: Amostras de soro livre de hemólise. A creatinina no soro é estável por 7 dias se estiver refrigerado a 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.

### MATERIAL NECESSÁRIO NÃO FORNECIDO

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

### PROCEDIMENTO

#### • Procedimento automático:

Aplicação no sistema automatizado: vide manual para utilização do equipamento e instruções de uso do reagente. Aplicação no sistema semiautomático: 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	1,0mL	1,0mL

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

2. Colocar 1,0mL 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 510nm com o reagente.
4. Cuidadosamente, adicionar 100µL do calibrador no tubo correspondente, homogeneizar e deixar em BM a 37°C. Acionar o cronômetro.
5. Registrar as absorbâncias iniciais (A1) aos 60 segundos e final (A2) aos 180 segundos. Proceder do mesmo modo com as amostras e soros controle.

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMICREA - CREATININA	Página 1 de 4 POPBIOxxx/xx
-------------------------------	---	-------------------------------

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

## CÁLCULOS

$(\text{Abs.} = \text{Absorbância}) / (\text{Conc.} = \text{Concentração}) / (\Delta \text{ Abs. /min} = A2 - A1)$

Método não compensado

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

Método compensado

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

Calculo para Urina de 24 horas:

Urina= Creat. Amostra(g/L) X fator diluição X Volume (L)

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

DEPURACAO DA CREATININA ENDOGENA

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

U= creatinina na urina (mg/dL)

S= Creatinina no soro (mg/dL)

1,73 = superfície corporal padrão

A= valor de superfície corporal do paciente (m<sup>2</sup>) - obtido através do nomograma correlacionando peso (kg) e altura (cm).

VM = volume urinário em 24horas (ml)

-----

1440 ( tempo de coleta em minutos)

## RESULTADOS

	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 titulo orientativo. É recomendado que cada laboratorio estabeleça seu próprio intervalo de referencia.

## LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- **Linearidade / Sensibilidade**

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.

Sensibilidade 0,1 mg/dL

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMICREA - CREATININA	Página 1 de 4 POPBIOxxx/xx
-------------------------------	---	-------------------------------

• **Interferências:**

Bilirrubina ate 24,3mg/dL, hemoglobina ate 200mg/dL e lipemia (triglicérides) ate 1020 mg/dL não interferem significativamente no resultado. Algumas drogas e substancias afetam a concentração da creatinina, sugerimos consultar Young et al.

**OBSERVAÇÕES**

1. A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
2. A agua utilizada no laboratorio deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade  $\geq 1$  mega ohm ou condutividade  $\leq 1$  microsiemens e concentração de silicatos  $< 0,1$  mg/L (agua tipo II). Para o enxague da vidraria a agua pode ser do tipo III, com resistividade  $\geq 0,1$  mega ohms ou condutividade  $\leq 10$  microsiemens. No enxague final utilizar água tipo II.

**REFERÊNCIAS**

1. Tilzer L.L., Jacobs D.S. "Laboratory Test Handbook", 3rd. Ed. Lexi Comp Inc. p. 202 (1994)
2. Jaffe, M., Z. Physiol Chem. 10:391 (1886)
3. DiGiorgio, J., Clinical Chemistry; Principles and Technics, 2nd. Edt. Edited by Henry, R.J., et al, Hagerstown (MD), Harper & Row, pp. 541:553 (1974)
4. Cook, J.G.H. Ann. Clin Biochem, 12:219 (1975)
5. Arquivos da EBRAM.

	Nome	Assinatura	Data
Elaborado por			
Aprovado por			
Revisado por			
Desativado por			
Razão			

VER: Set/20