

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: 10159820243

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

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.

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

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) = $\frac{\Delta \text{ Abs /min (amostra) Conc. do Padrão (mg/dL)}}{\Delta \text{ Abs /min (padrão)}}$ 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 (m²) - 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 até 24,3mg/dL, hemoglobina até 200mg/dL e lipemia (triglicérides) até 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 ≥ 1 mega ohm ou condutividade ≤ 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 ≤ 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: Abr/21