

Finalidade

Método cinético para a determinação de creatinina em soro, plasma ou urina.

Significado Clínico

A creatinina plasmática é derivada, praticamente em sua totalidade, do catabolismo da creatina presente no tecido muscular. É um metabólito utilizado para armazenar energia no músculo, na forma de fosfocreatina, e sua degradação em creatinina ocorre de maneira constante, ao redor de 2% do total de creatina, diariamente.

A excreção de creatinina só é realizada por via renal, uma vez que ela não é reabsorvida nem reaproveitada pelo organismo e por isso, é utilizada na investigação da doença renal. O aumento da creatinina pode ser de origem pré-renal (desidratação e insuficiência cardíaca), e quando provavelmente os rins estão envolvidos, o aumento é visto na insuficiência renal aguda grave, insuficiência renal crônica, e em casos de ruptura de bexiga e obstrução uretral.

O hábito de mensurar a ureia e a creatinina juntas fornece o máximo de informação e em particular, permite que o aumento da concentração de ureia pré-renal seja diferenciado dos quadros renais, e efeitos metabólicos e circulatórios podem ser reconhecidos sem ambigüidade.

Entre as causas da diminuição dos níveis de creatinina no plasma são consideradas a hidratação excessiva, a insuficiência hepática e as doenças musculares degenerativas.

Fundamento do método

A creatinina reage com o picrato alcalino (reação de Jaffe) produzindo um cromogênio vermelho. A velocidade desta reação, sob condições controladas, é uma medida da concentração de creatinina da amostra, posto que esta comporta-se como uma reação cinética de primeira ordem para a creatinina.

Por outro lado, demonstrou-se que os cromogênios não-creatinina que interferem na maior parte das técnicas convencionais reagem dentro de 30 segundos após o início da reação. Assim, entre os 30 segundos e os 5 minutos posteriores ao início da reação, o aumento da coloração se deve exclusivamente à creatinina.

Reagentes Fornecidos

A. Reagente A: solução de ácido pícrico 12,7 mmol/L e laurilsulfato de sódio 8,4 mmol/L.

B. Reagente B: solução de borato 53 mmol/L e hidróxido de sódio 970 mmol/L.

S. Padrão: solução de creatinina 2,0 mg/dL.

Reagentes não fornecidos

- Laboral Vet da Laborlab.

Instruções de Uso

Reagente A: pronto para uso. Sob temperatura baixa pode apresentar turbidez ou sedimentação. Neste caso, colocar em banho-maria a 37°C por uns minutos antes de seu uso.

Reagente B: pronto para uso.

Reagente de Trabalho: de acordo com o volume de trabalho, misturar quatro partes de Reagente A e uma parte de Reagente B. Rotular e datar.

Sob baixa temperatura pode apresentar turbidez ou sedimentação. Neste caso, colocar em banho-maria a 37°C alguns minutos antes de seu uso.

Precauções

Os reagentes são para uso diagnóstico *in vitro* veterinário.

Reagente B: irritante. R36/38: irrita os olhos e a pele. S24/25: evitar o contato com os olhos e a pele. S26: caso haja contato com os olhos, lavar imediatamente com água em abundância e procurar um serviço médico. S28: caso haja contato com a pele, lavar imediatamente com água em abundância. S37/39: usar luvas apropriadas e proteção para os olhos e a face.

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartados conforme a regulação local vigente.

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Estabilidade e instruções de armazenamento

Reagentes Fornecidos: são estáveis sob temperatura ambiente (2-25°C) até a data de vencimento indicada na embalagem.

Reagente de Trabalho: pré-misturado e em embalagem plástica, é estável por uma semana a temperatura ambiente (2-25°C). Evitar a exposição prolongada ao ar, mantendo o frasco bem fechado quando não for utilizado.

Amostra

Soro, plasma ou urina.

a) Coleta: soro ou plasma: obter de maneira habitual.

Urina de 2 horas ou 24 horas podem ser utilizadas. A coleta deve ser realizada em um frasco perfeitamente limpo e deverá ser mantido sob refrigeração (2-10°C) durante a coleta. Medir a diurese, separar uma alíquota e efetuar uma diluição 1:50 com água destilada. Caso a diurese seja de 2 horas, multiplicar o volume medido por 12 para calcular a quantidade de creatinina eliminada durante 24 horas.

b) Aditivos: caso a amostra seja plasma, utilizar somente heparina ou EDTA como anticoagulante.

c) Estabilidade e instruções de armazenamento: o soro ou plasma devem ser separados dos glóbulos vermelhos até duas horas após a coleta. Sob refrigeração (2-10°C) é estável por até 3 dias. A urina pode ser mantida por até 3 dias sob refrigeração (2-10°C) sem acréscimo de conservantes.

Interferências

Para soro ou plasma não são observadas interferências por hemoglobina até 0,78 g/dL (7,8 g/L), triglicérides até 170 mg/dL (1,7 g/L), nem bilirubina até 24 mg/dL (240 mg/L). Para urina, não são observadas interferências por proteínas até 500 mg/dL (5 g/L), ácido ascórbico até 100 mg/dL (1 g/L), nem corpos cetônicos até 4 mmol/L.

Material necessário (não fornecido)

- Espectrofotômetro capaz de ler a 500 ± 10 nm;
- Micropipetas e pipetas capazes de medir os volumes indicados;
- Cubetas espectrofotométricas;
- Banho-maria a 25°C e,
- Cronômetro.

Condições da reação

- Comprimento de onda: 500 nm.

- Temperatura de reação: 25°C.

O controle de temperatura não é crítico, podendo oscilar entre 22 e 28°C. Vide "Limitações do procedimento".

- Tempo de reação: 5 minutos

- Volume de amostra: 0,2 mL

- Volume de Reagente de Trabalho: 1,2 mL

- Volume final de reação: 1,4 mL

Procedimento

I- Técnica para soro ou plasma

Equilibrar o Reagente de Trabalho à temperatura de reação (25°C). Antes de adicionar a amostra, zerar o aparelho com água destilada. Em duas cubetas espectrofotométricas marcadas P (Padrão) e D (Desconhecido), colocar:

	P	D
Reagente de Trabalho	1,2 mL	1,2 mL
Padrão	0,2 mL	-
Amostra	-	0,2 mL

Misturar imediatamente, disparando ao mesmo tempo o cronômetro e prosseguir a incubação. Aos 30 segundos exatos medir a absorvância (P₁ e D₁), e continuar a incubação. Medir novamente a absorvância (P₂ e D₂), aos 5 minutos (4 minutos e 30 segundos após a primeira leitura).

II- Técnica para urina

Coletar e preparar a amostra como descrito em "Coleta", efetuando uma diluição 1:50 com água deionizada. Após, empregar a técnica I.

Cálculos dos resultados

1) Creatinina no soro (mg/dL) = (D₂ - D₁) x f

$$f = \frac{2,0 \text{ mg/dL}}{P_2 - P_1}$$

2) Creatinina na urina (g/24 hs) = $\frac{D_2 - D_1}{P_2 - P_1} \times V$

onde:

V = volume da diurese expresso em litros/24 horas

A fórmula surge de:

$$\text{Creatinina na urina (g/24 horas)} = \frac{D_2 - D_1}{P_2 - P_1} \times 0,020 \text{ g/L} \times 50 \times V$$

onde:

0,020 g/L = concentração do Padrão

50 = fator de diluição

Para expressar a creatinina na urina em "mg/Kg/24 horas":

$$\frac{\text{Creatinina na urina (g/24 horas)} \times 1000 \text{ mg/g}}{\text{Peso do paciente (Kg)}}$$

Exemplo:

(Os dados apresentados a seguir são ilustrativos)

1) Creatinina no soro

- Amostra

D₁: 0,078

D₂: 0,103

Absorvância da amostra: 0,103 - 0,078 = 0,025

- Padrão

S₁: 0,132

S₂: 0,181

Absorvância do Padrão: 0,181 - 0,132 = 0,049

$$\text{Fator} = \frac{2,0 \text{ mg/dL}}{0,049} = 40,8$$

$$\text{Creatinina no soro (mg/dL)} = 0,025 \times 40,8 = 1,02 \text{ mg/dL}$$

2) Creatinina na urina (g/24hs)

- Amostra de urina (diluída 1:50)

D₁: 0,015

D₂: 0,085

Absorvância da amostra: 0,085 - 0,015 = 0,070

- Padrão
 S_1 : 0,132
 S_2 : 0,181
 Absorbância do Padrão: $0,181 - 0,132 = 0,049$
 Diurese: 2,3 litros/24 horas

Creatinina na urina (g/24hs) = $\frac{0,070}{0,049} \times 2,3 = 1,79$ g/24 horas

Método de Controle de Qualidade

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (Laborcontrol Vet 1 e 2) com atividades conhecidas de creatinina, com cada determinação.

Conversão de unidades ao sistema SI

Creatinina (mg/dL) x 0,884 = Creatinina (µmol/L)

Valores de Referência Espécie (mg/dL)

Canina	0,5 – 1,5
Felina	0,8 – 1,8
Bovina	1,0 – 2,0
Equina	1,2 – 1,9

Os valores de referência devem ser usados apenas como orientação. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça, na população de animais atendida, seus próprios valores de referência. Se a amostra for urina, utilizar um controle baseado em urina.

Limitações do procedimento

Vide "Interferências".

Outras causas de resultados errôneos são:

- Temperatura: embora a temperatura de reação admita uma variação entre 22 e 28°C, uma diferença entre a temperatura de incubação do padrão e a das amostras diminui a precisão do método.
- Tempo de leitura: ligeiras variações na medição do tempo afetam acentuadamente a exatidão do método. As leituras deverão ser realizadas exatamente em 30 segundos após haver misturado a amostra com o reagente e aos 5 minutos (4 minutos e 30 segundos após a primeira leitura).

Desempenho

- a) **Reprodutibilidade:** processando 20 determinações simultaneamente de uma amostra canina e outra equina com valores dentro do intervalo de referência, obteve-se o seguinte:

Amostra Canina:

Nível	D.P.	C.V.
2,19	0,022	1,028
1,32	0,018	1,39

Amostra Equina:

Nível	D.P.	C.V.
1,68	0,025	1,49
4,44	0,110	2,47

- b) **Limite de detecção:** a mudança mínima de concentração detectável é de 0,45 mg/dL.
- c) **Linearidade:** a reação é linear até 9,0 mg/dL de creatinina. Para valores superiores, diluir a amostra 1:2 ou 1:4 com solução salina e repetir a determinação. Corrigir os cálculos multiplicando pelo fator de diluição empregado.

Parâmetros para analisadores automáticos

Para a programação consultar o manual de uso do analisador a ser utilizado.

Para a calibração do aparelho deve ser utilizado o **Laborcal Vet** da Laborlab.

Apresentação

2 x 100 ml **Reagente A**

2 x 25 ml **Reagente B**

1 x 30 ml **Padrão**

(Cód. 1774104)

Referências

- Owen, J.A.; et al. - Biochem. J. 58:426 (1954).
- Henry, R.J. et al. - Clinical Chemistry, Principles and Technics, 2nd ed., Harper and Row Publishers Inc., N.Y. (1974).
- Butler, A.R. - J. Chem. Soc. (Perkin Trans. II), 853 (1975).
- Labbé, D et al. - Ann. Biol. Clin. 54:285 (1996).
- Burtis, CA; Ashwood, ER - Tietz Fundamentals of Clin. Chem., 5th ed., 2001.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocol EP15-A, 2001 / EP 17A, 2004.
- González, F. H. D.; SILVA, S. C. Introdução a bioquímica clínica veterinária. Porto Alegre: UFRGS, 2003.
- Kerr, Morag G. Exames Laboratoriais em Medicina Veterinária 2ª ed., Roca: São Paulo, 2003.

SÍMBOLOS



Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado na Comunidade Europeia



Uso médico-diagnóstico "in vitro"



Conteúdo suficiente para <n> testes



Data de validade



Limite de temperatura (conservar a)



Não congelar



Risco biológico



Volume após da reconstituição



Conteúdo



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caústico



Irritante



Consultar as instruções de uso



Calibrador



Controle



Controle Positivo



Controle Negativo



Número de catálogo

Termo de garantia

Este Kit como um todo tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Departamento Técnico da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda. que não houve falhas técnicas na execução e manuseio deste kit, assim como em sua conservação.



Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda.

Estrada do Capão Bonito, 489

Guarulhos/SP – Brasil – CEP: 07263-010

CNPJ: 72.807.043/0001-94

Atendimento ao cliente:

+55(11) 2480-0529/+55(11) 2499-1277

sac@laborlab.com.br

www.laborlab.com.br

Revisão 00

Maior, 2020