



Creatinine

Finalidade

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

Significado clínico

A creatinina, composto muito difundível, elimina-se do organismo quase exclusivamente por filtração renal. A determinação em soro, assim como a depuração de creatinina endógena constitui parâmetros importantes para o diagnóstico de variadas afecções renais.

Fundamentos 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 cromogênicos 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 incremento da coloração deve-se exclusivamente à creatinina.

Reagentes fornecidos

A. Reagente A: solução de ácido picrico 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 da Laborlab.

Instruções para uso

Reagente A: pronto para uso. A baixa temperatura pode apresentar turbidez ou sedimento. Em tal caso, colocar em banho-maria a 37°C 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.

A baixa temperatura pode apresentar turbidez ou sedimento. Em tal caso, colocar em banho-maria a 37°C alguns minutos antes de seu uso.

Precauções

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Reagente B: corrosivo. H319: Provoca irritação ocular grave. H314: Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. P262 Não pode entrar em contato com os olhos, a pele ou a roupa. P305 + P351 + P338: SE ENTRAR EM CONTATO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Caso use lentes de contato, retire-as, se for possível. Continuar enxaguando. P302 + P352: SE ENTRAR EM CONTATO COM A PELE: lavar com sabonete e água abundantes. P280: P280 Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/óculos de proteção/proteção facial. Contém hidróxido de sódio. Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas. Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

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). Em analisadores automáticos que empregam Reagente de Trabalho único (pré-misturado), deve-se referir às adaptações específicas de cada analisador.

Evitar a exposição prolongada ao ar, mantendo o frasco bem fechado quando não seja utilizado.

Amostra

Soro, plasma ou urina

a) Coleta: obter o soro ou plasma do modo usual.

Pode-se utilizar também urina de 2 horas ou de 24 horas. Sua coleta deve realizar-se num frasco perfeitamente limpo que deverá-se manter sob refrigeração (2-10°C) durante a coleta. Medir a diurese, tomar uma alíquota e efetuar uma diluição 1:50 da mesma em 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-se separar dos glóbulos vermelhos antes das duas horas da coleta. Sob refrigeração (2-10°C) é estável até 3 dias. A urina pode-se manter até 4 dias sob refrigeração (2-10°C) sem acréscimo de conservantes.

Interferências

Quando a amostra é 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 bilirrubina até 24 mg/dL (240 mg/L). Quando a amostra é urina, 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. Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

Material necessário (não fornecido)

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

Condições de 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".
- 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 se descreveu em "Coleta", efetuando uma diluição 1:50 da mesma em água desionizada. Empregar após a técnica I.

Cálculos dos resultados

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

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

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

onde:

V = volume da diurese expresso em litros/24 hs

A fórmula surge de:

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

onde:

0,020 g/L = concentração do Padrão

50 = fator de diluição

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

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

3) Depuração de Creatinina Endógena (D.C.E.):

$$\text{D.C.E. mL/min} = \frac{\text{Creatinina na urina (g/24 hs)}}{\text{Creatinina no soro (mg/dL)}} \times 69,4 \text{ mL/min}$$

onde:

$$69,4 \text{ mL/min} = \frac{\text{g/24 hs}}{\text{mg/dL}} = \frac{100 \text{ mg} \times 1.000 \text{ mL}}{1 \text{ mg} \times 1.440 \text{ min}} = \frac{100.000 \text{ mL}}{1.440 \text{ min}}$$

Para expressar D.C.E. em "mL/min/1,73 m²":

$$\frac{\text{D.C.E. (mL/min)} \times 1,73}{\text{Superfície corporal do paciente (m}^2\text{)}}$$

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 del Padrão: 0,181 - 0,132: 0,049

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

Creatinina no soro (mg/dL) = 0,025 x 40,8 = 1,02 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

S₁: 0,132

S₂: 0,181

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

Diurese: 2,3 litros/24 horas

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

3) Depuração de Creatinina Endógena

Creatinina no suero = 1,02 mg/dL

Creatinina na urina = 1,79 g/24 hs

$$\text{D.C.E. (mL/min)} = \frac{1,79 \text{ g/24 hs}}{1,02 \text{ mg/dL}} \times 69,4 \text{ mL/min} = 121,8 \text{ mL/min}$$

Calcular a superfície corporal em m² segundo os nomogramas.

$$\text{Superfície corporal (m}^2\text{)} = \frac{0,7184 \times \text{altura (cm)}^{0,725} \times \text{peso (kg)}^{0,425}}{100}$$

Multiplicar o D.C.E. do paciente por 1,73 e dividir pela superfície corporal do paciente (m²).

Exemplo:

Altura: 175 cm

Peso: 88 kg

Superfície corporal: 2,04 m²

$$\text{D.C.E. (mL/min/1,73m}^2\text{)} = \frac{121,8 \text{ (mL/min)} \times 1,73}{2,04 \text{ (m}^2\text{)}} = 103,3 \text{ mL/min/1,73m}^2$$

Método de controle de qualidade

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Standatrol S-E 2 níveis**) com concentrações conhecidas de creatinina, com cada determinação.

Valores de referência

Soro ou plasma:

Homem: 0,7 - 1,3 mg/dl (7 - 13 mg/l)

Mulher: 0,6 - 1,1 mg/dl (6 - 11 mg/l)

Urina:

Homem: 14 - 26 mg/Kg/24 hs

Mulher: 11 - 20 mg/Kg/24 hs

D.C.E.:

Homem: 94 - 140 ml/min/1,73 m²

Mulher: 72 - 110 ml/min/1,73 m²

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

Conversão de unidades ao sistema SI

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

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 marcadamente 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 segundo o documento EP15-A do CLSI (ex-NCCLS), obteve-se o seguinte:

Precisão intra-ensaio (n = 20)

	Nível	D.P.	C.V.
Soro	0,71 mg/dL	± 0,027 mg/dL	3,8 %
	1,47 mg/dL	± 0,032 mg/dL	2,2 %
	5,49 mg/dL	± 0,109 mg/dL	2,0 %
Urina	440 mg/L	± 9,35 mg/L	2,1 %
	2.620 mg/L	± 62,4 mg/L	2,4 %
	5.060 mg/L	± 136 mg/L	2,7 %

Precisão total (n = 20)

	Nível	D.P.	C.V.
Soro	0,71 mg/dL	± 0,030 mg/dL	4,3 %
	1,47 mg/dL	± 0,048 mg/dL	3,3 %
	5,49 mg/dL	± 0,147 mg/dL	2,7 %
Urina	440 mg/L	± 20,5 mg/L	4,6 %
	2.620 mg/L	± 119 mg/L	4,5 %
	5.060 mg/L	± 177 mg/L	3,5 %

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.

c) Limite de detecção: a mudança mínima de concentração detectável será de 0,45 mg/dL.

Parâmetros para analisadores automáticos

Para a programação consultar o Manual do Uso do analisador a ser utilizado. Para a calibração deve-se utilizar o Laborcal da Laborlab.

Apresentação

2 x 100 mL Reagente A

2 x 25 mL Reagente B

1 x 30 mL Padrão

(Cód. 1770100)

Referência

- 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.

- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCPress, 5th ed., 2000.

- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocol EP15-A, 2001 / EP 17A, 2004.

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.



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