

## FINALIDADE

Sistema colorimétrico para quantificação da creatinina no soro e urina.

**Somente para uso diagnóstico *in vitro*.**

## PRINCÍPIO

A creatinina reage com picrato alcalino, formando um complexo de cor amarelo avermelhado (reação de Jaffé).

## PARTICULARIDADES DO SISTEMA

O kit de Creatinina Doles pode ser utilizado para dosagem pelas metodologias Cinética e Ponto Final.

## METODOLOGIA

Jaffé modificado.

## REAGENTES

**Reagente túngstico:** Ácido Túngstico 0,034M.

**Reagente pícrico:** Ácido Pícrico 0,028M.

**Solução alcalina:** Hidróxido de Sódio 6M.

**Solução Padrão creatinina 5mg/dL:** utilizada na determinação da creatinina sérica.

**Solução Padrão creatinina 50mg/dL:** utilizada na determinação da creatinina urinária.

## APRESENTAÇÃO

Reagente túngstico	1 x 210mL
Reagente pícrico	1 x 105mL
Solução alcalina	1 x 25mL
Solução padrão creatinina 5mg/dL	1 x 3mL
Solução padrão creatinina 50mg/dL	1 x 3mL

## NÚMERO DE TESTES

### Manual

Reação de Jaffé com precipitação (ponto final)

105 testes/200µL de soro ou 20µL de urina

210 testes/100µL de soro ou 10µL de urina

Reação de Jaffé sem precipitação (cinético)

525 testes/100µL de soro ou 10µL de urina

### Automação (\*) - Somente para o modo Cinético

1.700 testes

(\*) A quantidade de testes na automação é variável de acordo com o equipamento.

**Protocolos de automação encontram-se disponíveis no site Doles ou através do Serviço de Atendimento ao Consumidor.**

## EQUIPAMENTOS E MATERIAIS NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro ou fotocolorímetro, capaz de medir a absorvância em 520nm. (ponto final)
- Fotocolorímetro com filtro de 505nm e cubeta termostatizada. (cinético)
- Tubos para centrífuga.
- Pipetas graduadas.
- Pipeta semiautomática de 100µL e 200µL.
- Ponteiras descartáveis.
- Água destilada ou deionizada.
- Cronômetro.

## ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

**Reagente túngstico:** armazenar em temperatura ambiente (20-30°C). Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, se obedecidas as condições de armazenamento.

**Reagente pícrico:** armazenar em temperatura ambiente (20-30°C). Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, se obedecidas as condições de armazenamento.

**Solução alcalina:** armazenar em temperatura ambiente (20-30°C). Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, se obedecidas as condições de armazenamento.

**Solução padrão creatinina 5mg/dL:** armazenar em temperatura ambiente (20-30°C). Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, após aberto manter sob refrigeração (2-8°C), afim de evitar evaporação.

**Solução padrão creatinina 50mg/dL:** armazenar em temperatura ambiente (20-30°C). Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, após aberto manter sob refrigeração (2-8°C), afim de evitar evaporação.

## CUIDADOS E PRECAUÇÕES COM O USO DOS REAGENTES

Todos os reagentes são somente para **uso diagnóstico *in vitro***. Seu manuseio deve ser cuidadoso, evitando-se contato com pele e mucosas. Os reagentes são corrosivos. Em caso de contaminação acidental, lavar a área afetada em água corrente. O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se aos critérios de biossegurança estabelecidos pelo laboratório, de acordo com as normas locais, estaduais ou federais.

Observar ainda a simbologia constante nos rótulos do produto:



Corrosivo

Irritante

## AMOSTRA

Soro, plasma e urina. Evitar hemólise, pois existem quantidades significativas de cromógenos não específicos nos eritrócitos. A creatinina permanece estável por 7 dias, entre 2-8°C.

**Urina de 24 horas** deverá ser colhida sem conservantes e mantida sob refrigeração durante a coleta. Centrifugar no momento do teste.

Líquido amniótico deve ser mantido sob refrigeração e ao abrigo da luz. Centrifugar no momento do teste.

**Todas as amostras biológicas devem ser consideradas como potencialmente infectante.**

## PROCEDIMENTO TÉCNICO

**CINÉTICO – JAFFÉ** (adequado para equipamentos de semi automação e automação completa).

### Preparo do Reagente de Trabalho:

Em um béquer adicionar os seguintes reagentes:

2,5mL de Reagente Pícrico

10mL de água destilada ou deionizada

10 gotas de solução alcalina

Homogeneizar e aguardar 5 minutos.

A solução é suficiente para a realização de 12 testes e permanece estável por 05 dias se mantida entre 2-8°C.

**Na utilização da metodologia de jaffé cinético não se utiliza o reagente túngstico.**

### Realização do Teste no Soro/Plasma:

1.Transferir 1mL do reagente de trabalho para um tubo de ensaio.

2.Adicionar **100µL** de padrão (**5mg/dL**) ao reagente de cor e homogeneizar com ligeira agitação.

3.Transferir para cubeta termostatizada a 37°C (por aspiração em equipamentos dotados de cubeta de fluxo), comprimento de onda de 505nm, zerado contra água.

4.Esperar 30 segundos.

5.Fazer a leitura inicial (A inicial) em absorvância, disparando simultaneamente o cronômetro. Anotar o achado.

6.Repetir a leitura (A final) 60 segundos após a primeira leitura.

7.Anotar o achado

8.Repetir as etapas acima quando da dosagem do padrão em duplicata ou triplicata.

9.Para dosagem das amostra repetir as etapas acima substituindo o padrão pela amostra.



## Realização do Teste na Urina

1. Transferir 1mL do reagente de trabalho para um tubo de ensaio.
2. Adicionar **10µL** de padrão (**50mg/dL**) ao reagente de cor e homogeneizar com ligeira agitação.
3. Transferir para cubeta termostatizada a 37°C (por aspiração em equipamentos dotados de cubeta de fluxo), comprimento de onda de 505nm, zerado contra água.
4. Esperar 30 segundos.
5. Fazer a leitura inicial (A inicial) em absorvância, disparando simultaneamente o cronômetro. Anotar o achado.
6. Repetir a leitura (A final) 60 segundos após a primeira leitura.
7. Anotar o achado
8. Repetir as etapas acima quando da dosagem do padrão em duplicata ou triplicata.
9. Para dosagem da amostra repetir as etapas acima substituindo o padrão pela amostra.

## CÁLCULOS - CINÉTICO

### SORO/PLASMA

$Creatinina (mg/dL) = (A_{final} - A_{inicial}) amostra \times F$

$$F = \frac{5}{(A_{final} - A_{inicial}) padrão}$$

Exemplo:

Leituras:

$(A_{final} - A_{inicial}) padrão = 0,131$

$(A_{final} - A_{inicial}) amostra = 0,020$

$$F = \frac{5}{0,131} = 38,17$$

$Creatinina (mg/dL) = 0,020 \times 38,17 = 0,8$

### URINA

$Creatinina (mg/dL) = (A_{final} - A_{inicial}) amostra \times F$

$$F = \frac{50}{(A_{final} - A_{inicial}) padrão}$$

Exemplo:

Leituras:

$(A_{final} - A_{inicial}) padrão = 0,131$

$(A_{final} - A_{inicial}) amostra = 0,250$

$$F = \frac{50}{0,131} = 381,68$$

$Creatinina (mg/dL) = 0,250 \times 381,68 = 95$

**PONTO FINAL - JAFFÉ** (adequado para espectrofotômetro).

### Realização do Teste no Soro/Plasma

#### 1ª Etapa - Desproteíntização

Não é necessário proceder a desproteíntização do padrão. Vide 2ª etapa - colorimetria

Em um tubo de ensaio proceder como segue:

Reagente Túngstico 2,0mL

Amostra 200µL

Agitar e centrifugar, em alta rotação, durante 5 minutos.

\* O sobrenadante pode apresentar-se turvo. A ocorrência de turvação não interfere nos resultados finais.

## 2ª Etapa - Colorimetria

	B	P	T
Amostra	-	-	Decantar todo o sobrenadante da etapa anterior para um tubo limpo e prosseguir a reação com o mesmo. Descartar o tubo com precipitado.
Água destilada	2mL	2mL	-
Solução padrão 5mg/dL	-	200µL	-
Reagente Pícrico	0,5mL	0,5mL	0,5mL
Solução Alcalina	2 gotas	2 gotas	2 gotas

Homogeneizar e deixar repousar à temperatura ambiente (20-30°C) durante 7 minutos. Ler as absorvâncias em 520nm, acertando o zero com o branco.

**Não realizar leituras em outros comprimentos de onda.** A cor final permanece estável por 20 minutos, à temperatura ambiente (20-30°C).

### Realização do Teste na Urina

	B	P	T
Água destilada	2mL	2mL	2mL
Urina	-	-	20µL
Solução padrão 50mg/dL	-	20µL	-
Reagente Pícrico	0,5mL	0,5mL	0,5mL
Solução Alcalina	2 gotas	2 gotas	2 gotas

Homogeneizar e deixar repousar à temperatura ambiente (20-30°C) durante 7 minutos. Ler as absorvâncias em 520nm, acertando o zero com o branco.

**Não realizar leituras em outros comprimentos de onda.** A cor final permanece estável por 20 minutos, à temperatura ambiente (20-30°C).

## CÁLCULOS - PONTO FINAL

### SORO/PLASMA

$Creatinina (mg/dL) = absorvância do teste \times F$

$$Fator (F) = \frac{5}{absorvância padrão (média)}$$

Exemplo:

Leituras:

Padrão: 0,160; 0,161; 0,169

Teste : 0,033

$$Média (padrão) = \frac{0,160 + 0,161 + 0,169}{3}$$

$$F = \frac{5}{0,163} = 30,67$$

$Creatinina (mg/dL) = 0,033 \times 30,67 = 1,0$

### URINA:

$Creatinina (mg/dL) = absorvância \times F$

$$Fator (F) = \frac{50}{absorvância padrão (média)}$$

Exemplo:

Leituras:

Padrão: 0,160; 0,161; 0,169

Teste : 0,350

$$Média (padrão) = \frac{0,160 + 0,161 + 0,169}{3} = 0,163$$

$$F = \frac{50}{0,163} = 306,75$$

$Creatinina (mg/dL) = 0,350 \times 306,75 = 107$



## DEPURAÇÃO (CLEARANCE) DA CREATININA ENDÓGENA (24HORAS)

1. Instruir o paciente para que faça uma coleta correta da urina de 24 horas.
2. Dosar a creatinina no soro e na urina.

Depuração da creatinina endógena =

$$\frac{U}{P} \times VM \times \frac{1,73}{S} \quad (\text{mL/minuto}/1,73\text{m}^2 \text{ superfície corporal})$$

U = creatinina urina mg/dL.

P = creatinina soro mg/dL.

VM = volume minuto urinário: dividir o volume urinário (colhido) em mL por 1440, para se obter o volume minuto.

S = superfície corporal do paciente. É necessário a utilização de nomograma para o cálculo da superfície corporal do paciente. Caso não possua, solicite o seu junto ao Serviço de Atendimento ao Consumidor.

Exemplo:

Creatinina no soro (mg/dL) = 1,08

Creatinina na urina (mg/dL) = 109

Volume de 24 horas = 1500mL

Volume minuto =  $1500 \div 1440 = 1,042$ .

Peso = 70Kg Altura = 175cm

S =  $1,85\text{m}^2$

$$\text{Depuração da creatinina endógena} = \frac{109}{1,08} \times 1,042 \times \frac{1,73}{1,85}$$

Depuração da creatinina endógena = 98,5 (mL/minuto/1,73m<sup>2</sup> superfície corporal)

## CÁLCULO CREATININA URINÁRIA mg/kg de peso/24horas

Creatinina Urina = 105mg/dL

Volume Urinário de 24 Horas = 1500mL

Peso kg = 70

### • 1º Passo - Calcular a quantidade em mg/24horas

$$\text{Urina mg/24horas} = \frac{\text{Creatinina urina (mg/dL)} \times \text{Volume urinário 24horas (mL)}}{100}$$

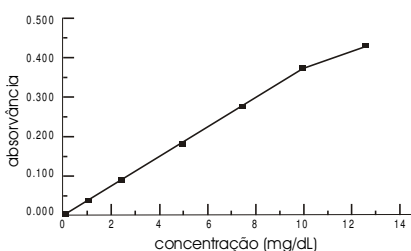
$$\text{Urina mg/24horas} = \frac{105 \times 1.500}{100} = 1575$$

### • 2º Passo - Calcular a quantidade mg/kg de peso/24horas

$$\text{Urina mg/kg de peso/24 horas} = \frac{\text{Creatinina Urina mg/24horas}}{\text{Peso (kg)}}$$

$$\text{Urina mg/kg de peso/24 horas} = \frac{1575}{70} = 22,5$$

## CURVA DE CALIBRAÇÃO



Padrão	Absorvância	Conc. (mg/dL)
1	0.000	0
2	0.039	1
3	0.096	2.5
4	0.190	5
5	0.282	7.5
6	0.385	10
7	0.445	12.5

Curva de calibração realizada modo ponto final.

Obs.: Não utilizar esta curva para determinar o resultado de seu ensaio.

• A curva de calibração é a representação gráfica da relação entre os valores das absorvâncias com os valores das concentrações de um conjunto de soluções padrão. São necessários três passos para confeccioná-la: (1) preparo das soluções padrão; (2) medição dos valores de absorvância das soluções padrão, de acordo com o especificado no procedimento técnico da presente instrução de uso, e (3) montagem de um gráfico em papel especial, linear, onde são relacionados os valores de absorvância com os de concentração, conforme demonstrado na figura acima.

As dosagens para montagem da curva foram feitas em um espectrofotômetro "Ultrospec III", Pharmacia Biotec, comprimento de onda de 520nm e cubetas com passagem de luz de 10mm.

• A curva de calibração demonstra a linearidade da reação até uma determinada concentração, na qual pode ser determinado um fator de calibração (F), de acordo com a Lei de Beer.

• **A reação é linear até 10mg/dL para dosagem sérica e até 200mg/dL para dosagem urinária.**

• **O kit de Creatinina Doles possui padrão no intervalo de linearidade da metodologia de Jaffé modificado. O laboratório deve realizar o ensaio com o padrão que acompanha o kit e calcular seu fator de calibração (F), a exemplo do demonstrado nos cálculos abaixo.**

• **O fator deve ser refeito periodicamente e a cada lote do produto.**

• As soluções padrões utilizadas foram ajustadas em seus valores com os recursos do "Sistema Cobas Mira plus" e com "Calibrador Roche" lote T1237A.

## EXPRESSÃO DOS RESULTADOS EM UNIDADES S.I.

Creatinina (μmol/L) = Creatinina (mg/dL) x 88,4.

Depuração da creatinina (mL/s) = Depuração da creatinina (mL/min) x 0,0167.

## LIMITAÇÕES DO SISTEMA

- As reações de modo final devem ser lidas impreterivelmente a 520nm.
- Para se obter ótimo desempenho do sistema, é necessário que o procedimento técnico seja rigorosamente seguido conforme instruções de uso. Qualquer alteração poderá levar a resultados errôneos.
- Exercícios físicos podem causar valores elevados de creatinina.
- Coleta incompleta ou errônea em relação à urina pode causar valores falsamente baixos.
- Algumas drogas como: aminoglicosídeos, cimetidina, agentes quimioterápicos e drogas nefrotóxicas como as cefalosporinas e ácido ascórbico entre outras, podem causar valores elevados de creatinina.

## CONTROLE DA QUALIDADE DO SISTEMA

1. A limpeza e a secagem adequada do material a ser utilizado são de fundamental importância para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
2. A água utilizada na limpeza do material, no preparo dos reagentes e na dosagem, deve ser de boa qualidade.
3. Colunas deionizadoras saturadas liberam íons diversos, aminas e agentes oxidantes, que deterioram os reagentes.
4. As pipetagens devem ser precisas.
5. O uso de soro controle de referência deve ser uma prática rotineira do laboratório. Recomenda-se utilizar um soro controle com valor na faixa de normalidade (**soro controle N - Doles**) e outro soro controle de valor elevado (**soro controle P - Doles**).



## VALORES DE REFERÊNCIA

É recomendado que cada laboratório estabeleça sua própria faixa de valores de referência na população atendida.

Como orientação, sugerimos os seguintes valores:

### Soro

Adultos	Mulheres	0,5 - 1,1mg/dL
	Homens	0,6 - 1,2mg/dL
Recém-nascido		0,3 - 1,2mg/dL

### Urina

Mulheres	16 a 22mg/kg peso/24 horas
Homens	21 a 26mg/Kg peso/24 horas

## DEPURAÇÃO DE CREATININA

Adultos (< 40 anos) :

Mulheres	88 - 128mL/min/1,73m <sup>2</sup>
Homens	97 - 137mL/min/1,73m <sup>2</sup>
Recém-nascidos	40 - 65mL/min/1,73m <sup>2</sup>

As taxas de depuração diminuem com a idade, na ordem de 6,5mL/minuto/década.

## SIGNIFICADO CLÍNICO

A creatinina é eliminada pelos rins em velocidade relativamente constante, através de filtração glomerular e excreção tubular ativa. Sua concentração independe da ingestão de proteínas na alimentação e não é afetada pelo volume urinário. A concentração de creatinina sérica é mais sensível e específica do que a concentração de ureia sérica no estudo da função renal. Valores aumentados indicam problemas de função renal. Geralmente o nível sérico de creatinina é proporcional à severidade da enfermidade.

## CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Foram realizados 45 testes em amostras cujo teor de creatinina se situava no intervalo de 0,6 a 10mg/dL. Esses ensaios foram realizados em paralelo com uma metodologia de referência. A comparação do kit de Creatinina Doles (Y) com a metodologia mencionada (X) deu origem à seguinte equação de regressão linear:  $Y = 0,11 + 0,983X$ , sendo o coeficiente de correlação  $r = 0,98$ .

Testes mostram uma recuperação de 96 - 104%.

Erro da média foi de 2,34%.

**Repetitividade:** foram realizadas 20 dosagens sucessivas, com 2 amostras, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2
Concentração (mg/dL)	1,11	5,77
Desvio padrão	0,04	0,14
Coefficiente de variação (%)	3,60	2,42

**Reprodutibilidade:** foram realizadas 20 dosagens, durante 20 dias consecutivos, obtendo-se os seguinte resultados:

	Amostra 1	Amostra 2
Concentração (mg/dL)	1,29	6,52
Desvio padrão	0,05	0,20
Coefficiente de variação (%)	3,88	3,07

**Especificidade:** a presente metodologia está sujeita à interferência de algumas substâncias cromógenas (ver em substâncias interferentes).

**Sensibilidade:** a absorvância encontrada, de 0,004, corresponde a 0,1mg/dL de concentração de creatinina, quando realizados os testes em espectrofotômetro, a 520nm. A sensibilidade do sistema está diretamente relacionada com a do aparelho utilizado no laboratório.

**Diluição da matriz:** estudos sucessivos de diluição da matriz mostraram que não há interferência na sensibilidade diagnóstica da presente metodologia de Jaffé modificado.

**Substâncias interferentes:** a presente metodologia está sujeita a interferências de vários compostos. Algumas substâncias que interferem na reação: Ácido Ascórbico, piruvato, acetona, Ácido Acetoacético e antibióticos do grupo aminoglicosídeo. Tais substâncias desenvolvem cor na presença do reagente, fornecendo resultados até 10% mais elevados. Soros ictericos podem ser causa de resultados falsamente diminuídos de creatinina. Alguns medicamentos interferem nos níveis de creatinina, alterando assim os seus valores (ver em limitações do sistema). Para controle de tal interferência, é recomendado que o paciente seja questionado quanto ao uso de medicamentos.

## BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- Owen, J.A. Iggo, B, Scandrett. F.J. e Steward, C.P.: *Biochem. J.*:58: 426,1954.
- Pesce, A J.; Kaplan, L.A.: *Methods In clinical chemistry*, 10-17,1987, 1ª edição, Mosby.
- Ravel R.: *Laboratório clínico - aplicações clínicas dos achados laboratoriais*, 4ª edição, 429, 1988.
- Pagana K.D.: *Morby's diagnostic and laboratory test reference*, 243-247, 1992.
- Tibúrcio, H.M.: *Controle interno da qualidade analítica*, 1ªed. março/1995.
- Henry, J.B.: *Clinical diagnosis and management by laboratory methods*, 19ª ed, 164-165, 1996.
- Doles: dados de arquivo.

## TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

As garantias do fabricante ao consumidor seguem estritamente as relacionadas na Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1.990 - **Código de Defesa do Consumidor**.

Todos os reagentes que compõem este sistema para diagnóstico são garantidos na sua performance, reprodutibilidade e qualidade até a data de vencimento dos mesmos, se obedecidas as condições abaixo:

- O usuário do sistema seguir, rigorosamente, o procedimento técnico.
- As condições de armazenamento deverão estar de acordo com o estabelecido nas instruções de uso.
- Os materiais necessários e não fornecidos deverão estar em boas condições técnicas.

**Todos os produtos que apresentarem problemas técnicos comprovados serão substituídos, sem ônus para o consumidor.**

Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda.

CNPJ: 01.085.513/0001-05

Rodovia BR 153, Km 1273, Lt.07, Chácara Retiro

CEP: 74001-970 Goiânia - GO - Brasil

Caixa Postal 1051

email: doles@doles.com.br

M.S.: nº 10231810014

Revisão: 21 (08/2009)

## NBR ISO 9001

**Sistema da Qualidade certificado desde 1999**

