CREATININA CINÉTICA

INSTRUÇÕES DE USO

MÉTODO:
Cinético colorimétrico.

FINALIDADE:
Reagentes para a determinação quantitativa cinética de Creatinina em amostras de soro humano. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO:
Em conjunto com o Ácido Pícrico, a creatinina forma em meio alcalino um complexo de cor vermelho – amarelado, cuja intensidade é proporcional à sua concentração na amostra.

SIGNIFICADO CLÍNICO:
A creatinina sérica é um produto formado pela descarboxilação da creatino-fosfato no músculo. Sua concentração está relacionada à massa muscular do paciente. Em geral indivíduos do sexo masculino e atletas apresentam níveis mais elevados que crianças, idosos e pacientes do sexo feminino. Ela é utilizada como índice de função renal devido à constância da formação e excreção da creatinina e normalmente ela não sofre interferência da dieta. A elevação da concentração de creatinina sérica e a excreção de creatinina urinária ocorrem em quadros de necrose muscular esquelética ou atrofia. Ela também pode estar presente em quadros de traumas, distrofias musculares progressivamente rápidas, poliomielite, dermatomiosite, miastenia grave, etc. Em geral a creatinina sofre elevação quando mais de 50% dos néfrons já foram comprometidos.
A creatinina plasmática é um teste de triagem mais confiável ou índice de função renal do que a uréia por sua relativa independência a fatores como dieta (ingestão de proteína), grau de hidratação e o metabolismo de proteínas.
A creatinina é livremente filtrada pelos glomérulos. Exercícios severos e ingestão de grandes quantidades de proteína podem ocasionar elevações significativas na excreção de creatinina. A redução da massa muscular pode ocasionar sua redução.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO DOS REAGENTES:

R1 – HIDRÓXIDO DE SÓDIO: Hidróxido de Sódio > 6 g/L, carbonato de sódio 32g/L.
R2 – ÁCIDO PÍCRICO: Ácido Pícrico > 3 g/L
R3 - PADRÃO: Creatinina 3 mg/dL, azida sódica 0,5 g/L, Ácido Clorídrico 0,02 N

PREPARO DO REAGENTE DE USO:
Misturar uma parte do R2 com quatro partes do R1. Conservar em frasco plástico tampado.

ESTABILIDADE:
Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo, quando armazenados a temperatura de 15 a 30 °C, bem vedados e se for evitada a contaminação durante o uso.
O reagente de uso é estável por 24 horas entre 2 e 8 °C e protegido de luz intensa. Após o término do uso é recomendável que o reagente seja armazenado evitando sua exposição ao ar.

TRANSPORTE:
Não existem condições especiais para o transporte do produto.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:
O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado sob as condições de temperatura descritas acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS:
- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes. Não ingerir ou aspirar. Evitar contato com a pele e mucosa;
- Recomendamos a aplicação das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos para a execução do teste;
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes;
- O R1 e o R3 são corrosivos e podem produzir queimaduras. O Padrão possui azida sódica. Deve-se tomar cuidado para evitar a ingestão ou contato com os olhos, pele ou mucosas. Se em contato, lavar imediatamente com bastante água e procurar auxílio médico;
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, deve-se utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:
- Espectrofotômetro US/VIS;
- Tubos e pipetas;
- Banho-maria ou termostitatizador na temperatura constante de 37 °C;
- Cronômetro;

AMOSTRAS BIOLÓGICAS
- **SORO e PLASMA (heparina, EDTA, Fluoreto, Oxalato e Citrato)**

A creatinina é estável no soro ou plasma por até 7 dias se a amostra for conservada à temperatura de 2 a 8 °C.
- **URINA**

Utilizar amostra de 24 horas. Deve-se realizar uma diluição de 1:25 com água deionizada e multiplicar o resultado final por 25.

INTERFERÊNCIAS
A elevação da creatinina pode ocorrer devido à presença de piruvato, ácido úrico, frutose, guanidina, hidantoína, ácido ascórbico e algumas cefalosporinas. Trimetoprim, cimetidina, quinina, quinidina, procainamida reduzem a depuração da creatinina. Durante a gravidez e após exercícios físicos pode ocorrer aumento da depuração.

PROCEDIMENTO DO TESTE

1. Observações
- O nível de água no banho-maria deve ser superior ao dos reagentes nos tubos;
- A observação minuciosa da limpeza e secagem da vidraria, da estabilidade dos reagentes, da pipetagem, da temperatura e do tempo de reação é de extrema importância para se obter resultados precisos e exatos;
- A água utilizada nos laboratórios clínicos deve ser purificada utilizando-se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, aminas e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

2. Preparação das amostras:
Soro e Plasma: Não é necessário pré-tratamento da amostra.
Urina: Amostra de 24 horas – Medir o volume total da urina, tirar uma alíquota e preparar uma diluição 1:25 com água deionizada. Multiplicar o resultado final por 25.
Para a depuração: Antes de iniciar o exame, solicitar ao paciente que esvazie completamente a bexiga. Administrar-lhe dois copos de água e aguardar duas horas. Durante qualquer momento, colher uma amostra de sangue. Após duas horas, coletar toda a urina. Medir o volume desta e dividi-lo por 120 para obter o valor do VM (volume/minuto).

3. Leitura do teste
Comprimento de onda: 510 nm
Tipo de reação: Cinético de tempo fixo
Temperatura: 37 °C
Unidade: mg/dL
Direção da reação: Crescente
Casas decimais: 2
Calibração: Utilizar o padrão do kit ou um calibrador protéico comercialmente disponível.
Volume de amostra/reagente: Verificar o volume mínimo de amostra/reagente aceito pelo equipamento de automação que será utilizado. A proporção de volume será 1 parte de amostra e 10 partes do reagente de uso.
Exemplo: Para um volume de reagente de 100 µL preparar um volume de amostra de 10µL.
Incubação inicial: 30 seg.;
Tempo de incubação: 120 seg.;
Linearidade: 10 mg/dL

4. Cálculos:

$$\text{Creatinina (mg/dL)} = \frac{A_1 - A_0 \text{ AMOSTRA}}{P_1 - P_0 \text{ PADRÃO}} \times \text{Conc. Padrão(mg/dL)}$$

4.1 Exemplo com Padrão
Concentração do Padrão: 3,0 mg/dL
Absorbância A_0 da Amostra: 0,1226
Absorbância A_1 da Amostra: 0,1519
Absorbância P_0 do Padrão: 0,0212
Absorbância P_1 do Padrão: 0,0898

$$\text{Creatinina (mg/dL)} = \frac{0{,}1519 - 0{,}1226}{0{,}0898 - 0{,}0212} \times 3{,}0 = 1{,}28 \text{ mg/dL}$$

4.2. Exemplo com Fator de Calibração
Fc = conc padrão/P_1-P_0 padrão = 43,7
Creatinina (mg/dL)=(A_1-A_0 da amostra) x Fator de Calibração
Creatinina (mg/dL) = (0,1519-0,1226) x 43,7 = 1,28 mg/dL

4.3. Para urina:
4.3.1. 24 horas
Creatinina mg/dL=Concentração fornecida pelo equipamento x 25
Creatinina na urina mg/24 horas = (mg/dL x Volume-mL)/100
Creatinina mg/kg/24 horas = (mg/24 horas)/peso paciente

4.3.2. Depuração
Depuração (mL/min) = (U/S)x VM
U = Creatinina na urina
S = Creatinina no soro
VM = Volume/minuto
A depuração deverá ser corrigida para a superfície corporal do paciente, que é obtida através do normograma que correlaciona peso-altura. Multiplicar o valor da depuração por 1,73 e dividir pela superfície corporal do paciente.

Exemplo:
Creatinina na urina (mg/mL)= 115
Creatinina no soro (mg/dL) = 0,85
Volume de 2 horas = 150 mL
Volume/minuto = 1,25
Depuração (mL/min) = (115/0.85) x 1,25 = 169,1 mL/min
Peso = 70 kg
Altura = 170 cm
Superfície corporal = 1,81 cm^2
Depuração (mL/min/1,73m^2)=169,1x1,73)/1,81 = 162 mL/min/1,73m^2

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

1.Linearidade da reação de cor:
A reação de cor é linear até a concentração de 10 mg/dL. Para valores maiores, diluir a amostra com água destilada e efetuar nova determinação. Multiplicar o valor obtido pelo fator de diluição empregado.

2. Valores de Referência:

Soro		0,4 a 1,4 mg/dL
Urina	Mulher	16 a 22 mg/kg/24h
	Homem	21 a 26 mg/kg/24h
	Depuração	95 a 131 mL/minuto/1,73 m^2

Mg/kg peso/24 horas = mg/24 horas dividido pelo peso corporal
Depuração: 95 a 131 mL/minuto/1,73m^2

Estes valores devem ser utilizados como orientação. É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

3. Comparação de Métodos
O kit para o dosagem de creatinina foi comparado com outros kits comercialmente disponíveis. Amostras diversas foram utilizadas na comparação dos testes dentre essas soros controle e amostras de pacientes. Os resultados obtidos mostraram boa concordância.

4. Repetibilidade e reprodutibilidade
Foram utilizados soros controle comercialmente disponíveis para a avaliação da repetibilidade e reprodutibilidade do kit. Os soros foram reconstituídos e/ou preparados seguindo as recomendações do fabricante. Trinta determinações dos soros controle foram realizadas com o kit de Creatinina Cinética da VIDA Biotecnologia para a determinação da repetibilidade e 10 determinações por soro controle para a reprodutibilidade. As médias das determinações foram calculadas e comparadas com os valores alvo.

4.1 Repetibildiade

Soro Controle	N	MÉDIA	DP	CV%
SC1	30	2,42	0,06	2,47%
SC2	30	3,19	0,12	3,76%

4.2 Reprodutibilidade

Soro Controle	N	MÉDIA	DP	CV%
SC1	10	2,48	0,12	4,84%
SC2	10	3,25	0,17	5,23%

5. Controle de qualidade
Foram utilizados soros controle comercialmente disponíveis para a avaliação do kit. Os soros foram reconstituídos e/ou preparados seguindo as recomendações do fabricante. Dez determinações dos soros controle foram realizadas com o kit de Creatinina Cinética da VIDA Biotecnologia. As médias das determinações foram calculadas e comparadas com os valores alvo.

Soro Controle	Valor alvo	Média dos valores obtidos	% de Recuperação
SC1	2,71	2,76	101,8%
SC2	3,12	3,17	101,6%

Todo soro controle com valores determinados para creatinia pelo método de Jaffé pode ser utilizado.

APRESENTAÇÃO DO KIT

CATÁLOGO	REAGENTE	VOLUME	NÚMERO DE DETERMINAÇÕES
100/300-250	R1 – Hidróxido de Sódio	1 x 200,0 mL	250
	R2 – Ácido Pícrico	1 x 50,0 mL	
	R3 – Padrão	1 x 10,0 mL	

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1- JAFFÉ, M. Ueber den Niederschlag, welchen Pikrinsäure in normalem Harn erzeugt und über eine neue reaktion des kreatinins. Z. Physiol. Chem. v.10,p.391-400, 1886.
2- FABINY, D. L.; ERTINGHAUSEN, G. Automated reaction-rate method for determination of serum creatinine with the CentrifiChem. Clin. Chem. v.17,p.696-700, 1971.
3- BARTELS, H.; BÖHMER, M. Micro-determination of creatinine. Clin. Chim. Acta. v.32, p.81-85, 1971.
4- YOUNG, D.S. Effects of drugs on clinical laboratory tests - vol. 2, 5 ed. Washington DC: AACC Press, 2000.
5- WESTGARD, J. O. et al. A multi-rule shewhart chart quality control in clinical chemistry. Clin. Chem. v.27 p.493-501, 1981.

INFORMAÇÕES AO CONSUMIDOR:
A VIDA Biotecnologia garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nessa instrução sejam seguidos corretamente.
N° DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTUO DO PRODUTO.

PRODUZIDO E DISTRIBUÍDO POR: VIDA Biotecnologia
CNPJ: 11.308.834/0001-85
Avenida José Cândido da Silveira 2100 – Horto Florestal – CEP 31035-536; Belo Horizonte. Minas Gerais – www.vidabiotecnologia.com.br

Departamento de Serviços Associados | (31)34663351; dsa@vidabiotecnologia.com.br

Resp Técn.: Renato Silva CRBIO4 - 57360/04-D
Red. M.S. 80785070041

Rev.: 02/2016

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NO RÓTULO DO PRODUTO	
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa)
	Material Calibrador
	Limite de temperatura (conservar a)
	Consultar instruções de uso
	Código do Produto
	Produto para Diagnóstico In Vitro
	Liofilizado
	Corrosivo
	Risco Biológico
	Tóxico
	Reagente
	Data de Fabricação (mm/aaaa)
	Número de Lote