



CREATININA COLOR

INSTRUÇÕES DE USO

MÉTODO:

Pícrato alcalino.

FINALIDADE:

Reagentes para a determinação de Creatinina em amostras de soro, plasma e urina. 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. A creatinina é utilizada como índice de função renal devido sua constância de formação e excreção. 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. Essas elevações também podem estar presentes 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 para a determinação da 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 – Ácido Pícrico: Solução de Ácido Pícrico 48 mmol/L. Conservar entre 15 – 30 °C.

R2 – Reagente Alcalino: Carbonato de Sódio 75,5 mmol/L; Hidróxido de Sódio 112,5 mmol/L; Laurilsulfato de sódio 69 mmol/L. Conservar entre 15 – 30 °C.

R3 – Padrão: Creatinina 3 mg/dL . Após aberto, conservar entre 2 - 8 °C.

R4 – Acidificante: Ácido acético 8,7 mmol/L. Conservar entre 15 – 30 °C.

PREPARO DOS REAGENTES:

- Método de Ponto Final:** Os reagentes encontram-se prontos para uso.
- Método Cinético:** Misturar 4 partes do R2 – Alcalino com uma parte do R1 – Ácido Pícrico.

ESTABILIDADE:

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo, se 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 um dia, se conservado entre 15 e 30 °C protegido de luz forte.

Após aberto, o R3 - Padrão deve ser acondicionado entre 2 – 8 °C para melhor conservação.

TRANSPORTE:

O kit não é afetado pelo transporte desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 07 dias e em uma temperatura de até 37 °C.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado entre 15 e 30 °C e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS:

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes. 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 - Ácido Pícrico é tóxico e não deve ser inalado, ingerido ou entrar em contato com a pele ou mucosas. Se entrar em contato, lavar com bastante água e sabão.
- O R2 - Reagente alcalino é constituído por substâncias cáusticas e pode produzir queimaduras. 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;
- Em temperaturas muito baixas o Reagente alcalino pode precipitar. Tal fato não interfere na sua qualidade. Incubá-lo a 37 °C até a completa dissolução e homogeneizá-lo antes de usar;
- O Acidificante reduz o pH para o valor ideal para a total dissolução da cor devido à creatinina;
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, deve-se utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais;
- Não misturar reagentes de lotes diferentes;
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, evitando contaminação cruzada.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Espectrofotômetro US/VIS;
- Tubos e pipetas;
- Banho-maria ou termostatizador 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 as amostras forem armazenadas 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 presença de lipemia, hemólise ou icterícia interferem na dosagem. Hemoglobina > 180 mg/dL, bilirrubina > 38 mg/dL e triglicérides > 3500 mg/dL interferem na dosagem.

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, amins e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

2. Método de análise:

2.1 Dosagem no Soro ou Plasma

A. Método de Ponto Final

Temperatura: 37 °C

Comprimento de onda: 510 nm

A.1. Procedimento

Identificar três tubos de ensaio como Branco (B), Padrão (P) e Amostra (A) e proceder:

| REAGENTE | BRANCO (B) | AMOSTRA (A) | PADRÃO (P) |
|------------------|------------|-------------|------------|
| R2 - Alcalino | 2,0 mL | 2,0 mL | 2,0 mL |
| Amostra | - | 0,25 mL | - |
| Água deionizada | 0,25 mL | - | - |
| R3 - Padrão | - | - | 0,25 mL |
| R1 - Ác. Pícrico | 0,5 mL | 0,5 mL | 0,5 mL |

Homogeneizar imediatamente e incubar a 37 °C por 10 minutos; Efetuar as leituras fotométricas em 510 nm ou filtro verde, acertando o zero com o tubo Branco (B).

A absorbância da amostra é A1.

| REAGENTE | BRANCO (B) | AMOSTRA (A) | PADRÃO (P) |
|-------------------|------------|-------------|------------|
| R4 - Acidificante | 0,1 mL | 0,1 mL | - |

Agitar imediatamente e aguardar 5 minutos. Efetuar nova leitura da Amostra (A), acertando o zero com o Branco (B).

A absorbância da amostra é A2.

A.2. Cálculo

- $FC = \frac{A1 - A2}{A2} \times FC$
FC (Fator de Calibração) = 3/A padrão

Exemplo

Abs. Padrão = 0,242;

A1 = 0,117

A2 = 0,037

$FC = \frac{3}{(0,242)} = 12,4$

$FCreatinina(mg/dL) = (0,117 - 0,037) \times 12,4$

Creatinina = 0,99 mg/dL

B. Método Cinético:

Temperatura: 37 °C

Comprimento de onda: 510 nm

B.1. Procedimento

Identificar um tubo de ensaio como Amostra (A) e um tubo de ensaio como Padrão (P) e proceder:

Preparo do reagente de uso: Misturar 4 partes do R2 – Reagente Alcalino a uma parte do R1 – Ácido Pícrico. Homogeneizar delicadamente. O reagente de uso deve ser utilizado em até 24 horas.

| REAGENTE | AMOSTRA (A) |
|-----------------|-------------|
| Reagente de uso | 1,0 mL |
| Amostra | 100 µL |

Homogeneizar as amostras imediatamente e disparar o cronômetro simultaneamente. Medir a absorbância imediatamente após 30 segundos (A1) e exatamente 2 minutos após a primeira leitura (A2); Proceder da mesma maneira com o Padrão.

B.2. Cálculo

$FCreatinina(mg/dL) = (A2 - A1) \times FC$

$FC = \frac{3}{P2 - P1}$

Exemplo: P1 = 0,228, P2 = 0,412, A1 = 0,134, A2 = 0,226

$FC = \frac{3}{(0,412 - 0,228)} = 16,3$

$FCreatinina(mg/dL) = (0,226 - 0,134) \times 16,3 = 1,5$

2.2 Dosagem na Urina

Amostra 24 horas: medir o volume da urina, tomar uma alíquota e preparar uma diluição 1:25 com água deionizada. Multiplicar o resultado por 25. Dosar a urina utilizando o mesmo procedimento para soro ou plasma. Não é necessário adicionar o acidificante.

Cálculo

A.1. Método de Ponto Final

$FCreatinina(mg/dL) = A \text{ amostra} \times FC \times FD$ (fator de diluição)

$FCreatinina \text{ na urina mg/24 horas} = \frac{(mg/dL \times Volume - mL)}{100}$

$FCreatinina \text{ mg/kg/24 horas} = \frac{(mg/24 \text{ horas})}{\text{peso paciente}}$

FC (fator de calibração) = $\frac{3}{A \text{ padrão}}$

Exemplo: A padrão = 0,243

$FC = \frac{3}{0,243} = 12,3$

A1 = 0,648

$FCreatinina(mg/24h) = \frac{(200 \times 1200)}{100} = 2400 \text{ mg/24 horas}$

V = 1200 mL (24h)

Peso = 85 kg

$FCreatinina(mg/kg/24h) = \frac{2400}{85} = 28 \text{ mg/kg/24 horas}$

A.2.Método Cinético

Creatinina mg/dL = (A2-A1) x FC x FD (Fator de diluição)
Creatinina na urina mg/24 horas = $\frac{(mg/dL \times Volume - mL)}{100}$

Creatinina mg/kg/24 horas = (mg/24 horas)/peso paciente

FC (Fator de Calibração) = $\frac{3}{(P2-P1)}$

Realizar o cálculo como descrito anteriormente.

A.3.Depuração

1. Preparo do Paciente:

Antes de iniciar o exame, solicitar ao paciente que esvazie a bexiga completamente. Administrar-lhe 2 copos de água e marcar 2 horas.

2. Obtenção da amostra:

Durante qualquer momento, colher uma amostra de sangue. Após 2 horas, coletar toda a urina, medindo o volume e dividindo-o por 120 para o valor do VM (volume por minuto).

3. Dosagens

Dosar a creatinina na amostra de sangue e na urina de acordo com as respectivas técnicas.

Cálculo

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, 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/dL) = 119

Creatinina no soro (mg/dL) = 0,84

Volume de 2 horas = 140 mL

Volume/minuto = 1,167

Depuração (mL/min) = $(119/0,84) \times 1,167 = 165,3$ mL/min

Peso = 70 kg

Altura = 170 cm

Superfície corporal = 1,81 cm²

Dep.(mL/min/1,73m²) = $169,1 \times 1,73 / 1,81 = 162$ mL/min/1,73m²

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

1. Linearidade da reação de cor:

A reação de cor é linear até a concentração de 12 mg/dL. Para valores maiores, diluir a amostra com água deionizada 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 |
| Urina: Homem | 21 a 26 mg/kg/24h |

Mg/kg peso/24 horas = mg/24 horas dividido pelo peso corporal

Depuração: 95 a 131 mL/minuto/1,73m²

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

3. Sensibilidade

0,10 mg/dL

4. Comparação de Métodos

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

5. 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 Color 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.

5.1 Repetibilidade

| Soro Controle | N | MÉDIA | DP | CV% |
|---------------|----|-------|------|-------|
| SC1 | 30 | 2,47 | 0,07 | 2,83% |
| SC2 | 30 | 3,17 | 0,12 | 3,78% |

5.2 Reprodutibilidade

| Soro Controle | N | MÉDIA | DP | CV% |
|---------------|----|-------|------|-------|
| SC1 | 10 | 2,51 | 0,14 | 5,58% |
| SC2 | 10 | 3,21 | 0,19 | 5,92% |

6. 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 Color 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 | 2,67 | 98,5% |
| SC2 | 3,12 | 3,08 | 98,7% |

Todo soro controle com valores determinados para Creatinina pelo método Picrato Alcalino pode ser utilizado.

RISCOS RESIDUAIS IDENTIFICADOS

As medidas de redução dos riscos foram implementadas e o produto não apresenta riscos maiores que os benefícios obtidos com o seu uso; e se usado por profissionais qualificados e treinados, cientes das precauções descritas nos produtos, desempenhará suas funções com qualidade, segurança e eficácia.

APRESENTAÇÃO DO KIT

| CÓDIGO | REAGENTE | VOLUME | NÚMERO DE DETERMINAÇÕES |
|-------------|------------------------|--------------|-------------------------|
| 100/290-250 | R1 – Ac. Pícrico | 2 x 25,0 mL | 100 - 250 |
| | R2 – Reagente Alcalino | 2 x 100,0 mL | |
| | R3 – Padrão | 1 x 10,0 mL | |
| | R4 – Acidificante | 1 x 10,0 mL | |

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1- JAFFÉ, M. Ueber den Niederschlag, welchen Pikrinsäure in normalem Harnerzeugt 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 CentrifChem. 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.

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

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.

Nº DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO E DATA DE VALIDADE, VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

PRODUZIDO E DISTRIBUÍDO POR: VIDA Biotecnologia LTDA

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

Responsável Técnico: Renato Silva CRBIO4 – 57360/04-D

Reg. M.S. 80785070042

Rev.: 01/2022

| 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 |
|  | Número de catálogo |
|  | Produto para Diagnóstico In Vitro |
|  | Corrosivo |
|  | Risco Biológico |
|  | Tóxico |
|  | Reagente |
|  | Data de Fabricação (mm/aaaa) |
|  | Número de Lote |