

CK NAC

Kit para determinação da creatina quinase total por metodologia cinética UV.

REF. 458: MS 80022230088



MÉTODO

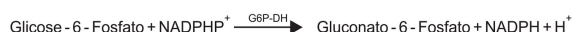
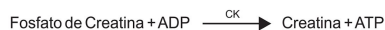
Cinético UV - IFCC.

FINALIDADE

Reagentes para determinação quantitativa da atividade da creatina quinase total (CK total) no soro ou plasma. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO

A creatina quinase cataliza a fosforilação do ACP pelo fosfato de creatina, obtendo-se creatina e ATP. A concentração catalítica é determinada empregando-se as reações associadas de hexoquinase e glicose-6-fosfato desidrogenase, a partir da velocidade de formação de NADPH, medindo em 340 nm e é proporcional à concentração de CK nas amostras.



SIGNIFICADO CLÍNICO

A creatinoquinase (CK) é encontrada no músculo cardíaco, na musculatura esquelética e no cérebro. Deste modo, qualquer lesão nas células desses órgãos poderá provocar um aumento nos níveis séricos de CK.

A CK é um dímero composto de duas subunidades: B (brain = cerebral) e M (muscle = muscular) que formam três 3 frações principais, denominadas de CK-BB (CK-1), CK-MB (CK-2) e CK-MM (CK-3). Existe ainda a CK-Mt (mitocondrial) que difere das outras, tanto do ponto de vista imunológico quanto de sua mobilidade eletroforética.

Isoenzimas da Creatinoquinase (CK)

- Isoenzima CK-BB:** É encontrada predominantemente no cérebro e no pulmão e praticamente inexistente no sangue periférico.
- Isoenzima CK-MM:** Compreende mais de 95% da CK dos músculos esqueléticos e cerca de 70-75% da enzima do miocárdio.
- Isoenzima CK-MB:** É uma fração híbrida composta de cadeias M e B, que é encontrada predominantemente no músculo cardíaco. A sua determinação é bastante específica para o diagnóstico do infarto do miocárdio.

Valores elevados de CK Total

No infarto agudo do miocárdio, a CK total começa a elevar-se 6 horas após ocorrência do infarto, atingindo um valor máximo em 12 - 24 horas permanecendo alterada até 72 horas, caso não ocorra um novo infarto nesse período.

Outras causas de elevação da CK total podem ocorrer em: distrofia muscular, infarto pulmonar, doença vascular cerebral aguda, convulsões, alcoolismo crônico, traumas e queimaduras, hipotireoidismo, acromegalia e uso de cocaína.

QUALIFICAÇÕES DO PRODUTO

- Metodologia cinética contínua ultravioleta simples e rápida, facilmente adaptável em analisadores automáticos e semi-automáticos.
- O produto emprega reagentes líquidos, possibilitando o preparo do volume de Reagente de Trabalho de acordo com a demanda do laboratório.
- A composição dos reagentes e o procedimento analítico obedecem às recomendações da IFCC.

IDENTIFICAÇÃO DOS REAGENTES

Conservar entre 2-8 °C.

- Tampão** - Contém tampão imidazol 125 mmol/L, acetato de magnésio 12,5 mmol/L, N-acetilcisteína 25 mmol/L, hexoquinase 6000 U/L, D-glicose 25 U/L, NADP 2,4 mmol/L, pH 6,7.
- Substrato** - Contém Fosfato de creatina 250 mmol/L, AMP 25 mmol/L, P₁P₅ di(adenosina-5') pentaosfato 102 µmol/L, Glicose-6-fosfato desidrogenase 8000 U/L.
- Calibrador** (liofilizado) - Contém tampão 50 mmol/L, cloreto de sódio 154 mmol/L, CKMB e CKMM de origem humana. O valor da atividade de CK está indicada no rótulo do frasco, que é rastreável ao Procedimento Primário de Referência da IFCC e ao Material de Referência ERM- AD455/IFCC.

ESTABILIDADE

Os reativos são estáveis até o vencimento da data de validade impressa no rótulo do produto e na caixa quando conservados na temperatura recomendada, bem vedados e se evite a contaminação durante o uso.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro UV com cubeta termostaticada;
- Tubos e pipetas;
- Cronômetro.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes e amostra biológica.
- Recomendamos o uso 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 Calibrador (3) por ser derivado do sangue humano foi testado para anticorpos anti-HCV e anti-HIV e antígeno HBsAg e apresentou resultado negativo. No entanto, deve ser tratado com precaução, como potencialmente infectante. Manusear e descartar segundo as normas de biossegurança.
- O Tampão (1) e o Substrato (2) contêm azida sódica como conservante. Evitar contato com os olhos, pele e mucosa. Não aspirar ou ingerir.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.

AMOSTRA

SORO ou PLASMA (heparina ou EDTA).

Evitar exposição à luz solar intensa. O analito é estável por 7 dias entre 2-8 °C. Não usar amostras hemolisadas.

Nota: Recomendamos que a coleta, preparação, armazenamento e descarte das amostras biológicas sejam realizadas seguindo as recomendações das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Enfatizamos que os erros provenientes da amostra podem ser muito maiores do que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

INFLUÊNCIAS PRÉ-ANALÍTICAS

A atividade da CK total pode aumentar até 5 vezes após injeções intramusculares.

A atividade da CK total pode aumentar até 3 vezes ou mais após exercícios físicos.

O uso prolongado do torniquete pode produzir resultados falsamente elevados de CK total.

INTERFERÊNCIAS

A bilirrubina até 20 mg/dL, lipemia (triglicérides até 500 mg/dL) e hemólise (hemoglobina até 10 g/L) não produzem interferências significativas.

Amostras com triglicérides acima de 500 mg/dL produzem resultados falsamente diminuídos.

PROCEDIMENTO DO TESTE

A. Condições de Reação

- Leitura: Comprimento de onda 340 nm
- Temperatura: 37 °C
- Tipo de reação: Cinética contínua crescente

1. Preparo do Reagente de Trabalho

De acordo com o consumo, misturar suavemente os reagentes 1 e 2 na seguinte proporção: 4 volumes de Tampão (1) + 1 volume do Substrato (2). Estável por 15 dias entre 2-8 °C protegido da luz.

2. Preparo do Calibrador

Abrir cuidadosamente o frasco de Calibrador (3).

Usando uma pipeta volumétrica calibrada, adicionar ao frasco do Calibrador o volume de água tipo II indicado no rótulo do frasco.

Fechar o frasco com a tampa de borracha e deixar em repouso por 10 minutos. Homogeneizar suavemente por inversão para dissolver o liofilizado.

Antes de usar, homogeneizar novamente e retirar a quantidade necessária para uso.

Tampar imediatamente e armazenar bem vedado e protegido da luz.

Estável por 30 dias entre 2-8 °C.

O Calibrador dissolvido deverá ser mantido fora da temperatura recomendada somente pelo tempo mínimo para retirada do volume de análise.

Para aumentar o período de conservação do Calibrador para 90 dias, sugerimos utilizar criotubos, dividir o volume em alíquotas menores e armazenar em temperatura inferior a 10 °C negativos.

Nota: O desempenho do Calibrador pode ser afetado por vários fatores como: erros de reconstituição, de homogeneização, armazenamento incorreto, contaminação da água ou vidraria.

B. Técnica de Análise com Calibrador

1. Pipetar na cubeta ou tubo:

Reagente de Trabalho	1000 µL
Amostra ou Calibrador	20 µL

2. Homogeneizar, inserir no porta-cubetas termostaticado a 37 °C o tubo Teste ou Calibrador e acionar o cronômetro.

3. Após 2 minutos, anotar a absorbância inicial e efetuar novas leituras após exatamente 1, 2 e 3 minutos.

4. As diferenças entre absorbâncias (ΔA/minuto) devem ser praticamente iguais, indicando a linearidade do método.

5. Calcular o aumento médio de absorbância por minuto do Calibrador e do Teste (ΔA/minuto médio).

Cálculos

Ver Linearidade.

Como a metodologia obedece a lei de Lambert-Beer, pode-se efetuar os cálculos através do Fator de Calibração (FC).

$\Delta A/\text{minuto}$ médio = Variação média da absorbância por minuto.

AC = Atividade de CK do Calibrador = x U/L (Valor de CK-NAC indicado no rótulo do Calibrador)

AT = Atividade de CK do Teste em U/L = $\Delta A/\text{minuto}$ do Teste x FC

FC = AC ÷ $\Delta A/\text{minuto}$ médio do Calibrador

Exemplo

Se $\Delta A/\text{minuto}$ médio do Calibrador = 0,036

Se $\Delta A/\text{minuto}$ médio do Teste = 0,012

Se AC = 286 U/L

FC = AC ÷ $\Delta A/\text{minuto}$ médio do Calibrador = $286 \div 0,036 = 7944$

AT = Atividade de CK do Teste em U/L = $0,012 \times 7944 = 95 \text{ U/L}$

C. Técnica de Análise sem Calibrador

1. Pipetar na cubeta ou tubo:

Reagente de Trabalho	1000 μL
Amostra	20 μL

2. Homogeneizar, inserir no porta-cubetas termostatzado a 37°C e acionar o cronômetro.

3. Após 2 minutos, anotar a absorbância inicial e efetuar novas leituras após exatamente 1, 2 e 3 minutos.

4. As diferenças entre absorbâncias ($\Delta A/\text{minuto}$) devem ser praticamente iguais, indicando a linearidade do método.

5. Calcular o aumento médio de absorbância por minuto para o Teste ($\Delta A/\text{minuto}$ médio).

Cálculos

Ver Linearidade.

Considerando que o coeficiente de absorção milimolar do NADPH em 340 nm é 6,3 deduz-se a seguinte fórmula para calcular a atividade catalítica:

U/L de CK Total = $\Delta A/\text{minuto}$ médio x 8095

$\Delta A/\text{minuto}$ = Variação média da absorbância por minuto.

Exemplo

Se $\Delta A/\text{minuto}$ médio do Teste = 0,012

U/L de CK total = $0,012 \times 8095 = 97 \text{ U/L}$

Cálculo do Fator

Fator = $(Vt \times 1000) \div (\epsilon \times Va \times d)$

Vt = Volume total do ensaio = 1020 μL

Va = Volume de amostra = 20 μL

1000 = Conversão U/mL para U/L

d = espessura da cubeta, via da luz (1 cm)

ϵ = absorbância milimolar do NADPH em 340 nm = 6,3

Fator = $(1020 \times 1000) \div (6,3 \times 20 \times 1) = 8095$

Atenção

- As técnicas apresentadas são adequadas para fotômetros cujo volume mínimo de solução para a leitura é igual ou menor que 1000 μL .
- O analista sempre deve fazer uma verificação da necessidade de ajuste do volume para o fotômetro empregado no seu laboratório.
- Os volumes de amostra e de reagente podem ser modificados proporcionalmente, sem alterar o desempenho do teste e os cálculos.
- Em caso de redução dos volumes é necessário observar o volume mínimo de leitura fotométrica.
- Volumes da amostra menores do que 10 μL são críticos em aplicações manuais e devem ser usados com cautela porque aumentam a imprecisão da medição.

Conversão de Unidades

Unidade convencional (U/L) x 0,0167 = Unidade SI ($\mu\text{Kat/L}$)

VALORES DE REFERÊNCIA

Homens: 26 a 189 U/L

Mulheres: 26 a 155 U/L

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

AUTOMAÇÃO

Este kit pode ser utilizado na maioria dos analisadores automáticos.

O consumidor poderá solicitar mais informações através do Setor de Apoio ao Cliente (SAC) ou acessando o site www.goldanalisa.com.br

O número de testes para os equipamentos está indicado nos respectivos protocolos de automação.

CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório clínico deve manter um Programa de Garantia da Qualidade para assegurar que todos os procedimentos laboratoriais sejam realizados de acordo com as Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Para controle e verificação do desempenho do kit usar Soro Controle N e Soro Controle P da Gold Analisa. É importante que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores médios e os respectivos limites de variação.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO⁹

Linearidade: A reação é linear até 2000 U/L. Para valores maiores, diluir a amostra com solução de NaCl 150 mmol/L (0,85%) e realizar uma nova determinação. Multiplicar o valor obtido pelo fator de diluição empregado.

Repetitividade: A imprecisão intra-ensaio foi calculada com 20 determinações sucessivas de CK total utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes.

As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 0,5 e 0,6%.

Reprodutibilidade: A imprecisão inter-ensaio foi calculada com 20 determinações de CK total em dias diferentes utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes.

As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 1,2 e 1,0%.

Sensibilidade Analítica: O limite de detecção é igual a 10 U/L, equivalente a três desvios padrão (DP) obtidos a partir de 20 replicatas do branco.

Comparação de Métodos: O produto foi comparado com outro similar disponível no mercado através da análise de 20 amostras de soro humano com valores desconhecidos.

Os resultados analisados por modelos estatísticos demonstraram que não há diferença significativa em um intervalo de confiança de 95% com um coeficiente de correlação linear $r = 0,999$ e uma equação de regressão $y = 1,002X + 0,7$.

OBSERVAÇÕES

- 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.
- Na limpeza da vidraria pode-se empregar um detergente neutro ou uma solução ácida. A última lavagem deve ser feita com água destilada ou deionizada.
- 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.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Fundamento de Química Clínica, 4a Ed - Guanabara Koogan SA; 1998.
- The Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry. Scand J Clin Lab Invest 1979;39:1.
- IFCC. Acta Bioq Clin Latino Americana 1987;21:281.
- IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. JIFCC 1989; 1:130-139.
- IFCC Part 2. Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Concentration of Creatine Kinase.. Clin Chem Lab Med 2002; 40 (6): 635-642.
- Lopes HJJ. Enzimas no Laboratório Clínico- Aplicações Diagnósticas. Belo Horizonte, Analisa Diagnóstica, 1998.
- Sociedad Española de Química Clínica, Comité Científico, Comisión de Enzimas. Quim Clin 1988; 7:29-32.
- Szasz G, Gruber W, Bernt E. Clin Chem 1976;22:650.
- GOLD ANALISA: Informe Técnico do Produto.

APRESENTAÇÃO

REF.	Reagentes	Volume
458	Tampão	1 x 40 mL
	Substrato	1 x 10 mL
	Calibrador	1 x 1 mL

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

Lei nº 8.078 de 11-9-90 - Código de Defesa do Consumidor

A Gold Analisa garante a substituição, sem ônus para o consumidor, de todos os produtos que comprovadamente apresentarem problemas técnicos, desde que o usuário utilize equipamentos e materiais em boas condições técnicas, siga rigorosamente o procedimento técnico e as recomendações estabelecidas nas Instruções de Uso.

Nº do lote e data de validade: Vide Rótulos do Produto

Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16

AF MS Nº 800222-3 - Reg. MS - Nº 80022230088

Farm. Resp. José Gilmar Pereira Berto - CRF-MG 13421

Av. Nossa Senhora de Fátima, 2363 - Carlos Prates - Fone: (31) 3272-1888

Belo Horizonte MG Brasil CEP: 30710-020











Home page: www.goldanalisa.com.br

E-mail: goldanalisa@goldanalisa.com.br

Setor de Apoio ao Cliente (SAC): 0800 703 1888

Analisa é marca registrada da Gold Analisa Diagnóstica Ltda

SIMBOLOGIA

	Número do catálogo		Limite de temperatura
	Número do lote		Quantidade de testes
	Produto para diagnóstico <i>in vitro</i>		Consultar as instruções de uso
	Data limite de utilização		Fabricado por
	Risco biológico		Liofilizado