

CK NAC

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

REF. 116

MS 80022230186



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 CK catalisa a reação entre creatinofosfato e adenosina difosfato (ADP) formando creatina e adenosina trifosfato (ATP).

A glicose é fosforilada pelo ATP sob a ação da hexoquinase (HK) formando glicose-6-fosfato, que é oxidada a 6-fosfogluconato (6-PG) pela glicose-6-fosfato-desidrogenase (G-6-PDH) na presença de NADP. Uma quantidade equimolar de NADP é reduzida a NADPH havendo um aumento da absorvância em 340 nm proporcional à atividade da CK.



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.

1- Tampão - Contém tampão imidazol 125 mmol/L, acetato de magnésio 12,5 mmol/L, N-acetilcisteína 25 mmol/L, hexoquinase 5000 U/L, glicose-6-fosfato desidrogenase 3500 U/L, NADP 2,5 mmol/L, AMP 6,25 mmol/L, ADP 2,5 mmol/L, diadenosina pentafofato 12,5 µmol/L e azida sódica 14,6 mmol/L.

2- Substrato - Contém tampão, creatinofosfato 150 mmol/L, glicose 100 mmol/L e azida sódica 14,6 mmol/L.

3- Calibrador (liofilizado) - Contém tampão 50 mmol/L, cloreto de sódio 154 mmol/L, CK-MB e CK-MM de origem humana. O valor da atividade de CK-MB 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 termostatizada;
- 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 38 mg/dL, lipemia (triglicérides até 1000 mg/dL) e hemólise (hemoglobina até 120 mg/dL) não produzem interferências significativas.

Amostras hemolisadas com hemoglobina acima de 120 mg/dL produzem interferência positiva significativa.

Amostras com triglicérides acima de 1000 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 14 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 termostatizado a 37 °C o tubo Teste ou Calibrador e acionar o cronômetro.

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

- As diferenças entre absorvâncias (ΔA /minuto) devem ser praticamente iguais, indicando a linearidade do método.
- Calcular o aumento médio de absorvância 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).

ΔA /minuto médio = Variação média da absorvância 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 = ΔA /minuto do Teste x FC

FC = AC ÷ ΔA /minuto médio do Calibrador

Exemplo

Se ΔA /minuto médio do Calibrador = 0,036

Se ΔA /minuto médio do Teste = 0,012

Se AC = 286 U/L

FC = AC ÷ ΔA /minuto médio do Calibrador = 286 ÷ 0,036 = 7944

AT = Atividade de CK do Teste em U/L = 0,012 x 7944 = 95 U/L

C. Técnica de Análise sem Calibrador

- Pipetar na cubeta ou tubo:

Reagente de Trabalho	1000 μ L
Amostra	20 μ L

- Homogeneizar, inserir no porta-cubetas termostatizado a 37°C e acionar o cronômetro.
- Após 2 minutos, anotar a absorvância inicial e efetuar novas leituras após exatamente 1, 2 e 3 minutos.
- As diferenças entre absorvâncias (ΔA /minuto) devem ser praticamente iguais, indicando a linearidade do método.
- Calcular o aumento médio de absorvância por minuto para o Teste (ΔA /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 = ΔA /minuto médio x 8095

ΔA /minuto = Variação média da absorvância por minuto.

Exemplo

Se ΔA /minuto médio do Teste = 0,012

U/L de CK total = 0,012 x 8095 = 97 U/L

Cálculo do Fator

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

Vt = Volume total do ensaio = 1020 μ L

Va = Volume de amostra = 20 μ L

1000 = Conversão U/mL para U/L

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

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

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

Conversão de Unidades

Unidade convencional (U/L) x 0,0167 = Unidade SI (μ 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 6,2 U/L, equivalente a três desvios padrão (DP) obtidos a partir de 20 determinações de CK em uma amostra de soro de 117 U/L.

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 $y = 0,996x - 6,851$

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: Dossiê Técnico do Produto.

APRESENTAÇÃO

REF.	Reagentes	Volume
116M	Tampão	1 x 24 mL
	Substrato	1 x 6 mL
	Calibrador	1 x 1 mL
116	Tampão	2 x 24 mL
	Substrato	2 x 6 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 80022230186

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