

Finalidade

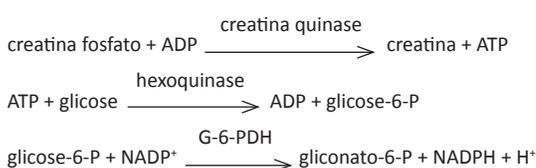
Método UV otimizado (IFCC) para a determinação de Creatina Quinase (CK) em soro ou plasma.

Significado clínico

A creatina quinase (CK) é uma enzima intracelular, localizada em maior proporção no músculo esquelético, no músculo cardíaco e no cérebro. Um aumento na atividade sérica, é portanto, indicio de lesão celular. No caso do enfarte agudo de miocárdio (EAM), a atividade sérica de CK começa a aumentar entre 2 e 6 horas após ter sido produzido o episódio, alcançando um valor máximo após de 18 a 24 horas. Os picos alcançados podem chegar a ser 20 vezes o limite superior normal, razão pela qual seja talvez, a prova mais sensível para o diagnóstico de EAM.

Fundamentos do método

Baseado no seguinte esquema de reações:



No esquema de reações intervém a N-acetilcisteína (NAC) como ativador da creatina quinase, recomendado pela I.F.C.C.

Reagentes fornecidos

A. Reagente A: solução de tampão imidazol.

B. Reagente B: solução de componentes contendo creatina fosfato e componentes reativos em quantidades suficientes para obter as seguintes concentrações finais:

imidazol	100 mmol/L; pH 6,7
creatina fosfato.....	30 mmol/L
ADP	2 mmol/L
glicose.....	20 mmol/L
NADP	2 mmol/L
hexoquinase	≥ 2500 U/L
glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PDH).....	≥ 2000 U/L
acetato de magnésio	10 mmol/L
AMP	5 mmol/L
di-(adenosina-5') pentafosfato	10 umol/L
N-acetilcisteína.....	20 mmol/L

Instruções para uso

Reagentes Fornecidos: prontos para uso. Podem-se utilizar separados ou como Reagente único misturando 5 partes de **Reagente A** com 1 parte de **Reagente B** (ex. 5 mL Reagente A + 1 mL Reagente B).

Precauções

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro". Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas. Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

Estabilidade e instruções de armazenamento

Reagentes Fornecidos: estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem.

Uma vez abertos, não devem permanecer fora do refrigerador por períodos prolongados. Evitar contaminações.

Reagente único (pré-misturado): estável por 20 dias sob refrigeração (2-10°C) a contar da data de sua preparação.

Indícios de instabilidade ou deterioração dos reagentes

Quando o espectrofotômetro for zerado com água destilada e as leituras de absorvância do Reagente único forem > 0,800 D.O. (a 340 nm) são indicio de deterioração do mesmo.

Amostra

Soro ou plasma heparinizado

a) Coleta: deve-se obter da maneira habitual.

b) Aditivos: caso de empregar plasma, deve-se utilizar heparina como anticoagulante.

c) Estabilidade e instruções de armazenamento: a amostra deve ser preferencialmente fresca. Pode ser conservada durante até uma semana sob refrigeração (2-10°C).

Interferências

Não interferem bilirrubina até 390 mg/L (39 mg/dL), triglicérides até 1250 mg/dL (12,5 g/L), nem hemoglobina até 0,15 g/dL (150 mg/dL). Referência bibliográfica Young à efeitos de drogas neste método.

Material necessário (não fornecido)

- Espectrofotômetro.
- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.
- Banho-maria à temperatura indicada no procedimento.
- Cronômetro.

Condições de reação

(Aumento de absorvância)

- Comprimento de onda: 340 nm (Hg 334 ou 366)
- Temperatura da reação: 25, 30 ou 37°C. Vide os "Valores de referência" correspondentes a cada temperatura.
- Tempo de reação: varia segundo o procedimento selecionado.

Procedimento

Técnica com reagente único

Zerar o aparelho com água destilada.

A) 30 – 37°C

Em uma cubeta mantida, a 30-37°C colocar:

Reagente único	1 mL
Preincubar 3-4 minutos, e depois adicionar:	
Amostra	40 uL

Misturar imediatamente e esperar 3 minutos. Ajustar a absorvância a uma leitura de referência e disparar simultaneamente o cronômetro. Registrar a absorvância depois de 1-2 e 3 minutos da primeira leitura. Determinar a diferença média de absorvância/min ($\Delta A/\text{min}$), subtraindo cada leitura da anterior e tirando a média destes valores. Utilizar esta média para os cálculos.

B) 25°C

Seguir o procedimento indicado em A), mais empregando 80 uL de Amostra e esperando 4 minutos depois do acréscimo da mesma.

Cálculo dos resultados

CK (U/L) = $\Delta A/\text{min} \times \text{fator}$

Em cada caso deve ser empregado o fator de cálculo correspondente como é indicado na seguinte tabela de fatores:

Long. onda	Temperatura	
	30-37°C	25°C
340 nm	4.127	2.142
334 nm	4.207	2.183
366 nm	7.429	3.856

Exemplo:

(Os dados apresentados a seguir são ilustrativos)

	Amostra	Diferença	Promédio
Absorvância A1	0,289		
Absorvância A2	0,324	0,035	
Absorvância A3	0,358	0,034	
Absorvância A4	0,395	0,037	0,035

Utilizando Fator teórico (37°C):

CK (U/L) = $0,035 \times 4127 = 144 \text{ U/L}$

Se é utilizado Laborcal como calibrador:

Concentração de CK no calibrador: 329 U/L (37°C)

	Calibrador	Diferença	Promédio
Absorbância A1	0,247		
Absorbância A2	0,329	0,082	
Absorbância A3	0,409	0,080	
Absorbância A4	0,488	0,079	0,080

Determinação do fator de calibração:

$$\text{Fator} = \frac{[\text{CK}]_{\text{calibrador}}}{\Delta\text{A}/\text{min}_{\text{calibrador}}} = \frac{329 \text{ U/L}}{0,080} = 4112$$

$$\text{CK (U/L)} = \Delta\text{A}/\text{min}_{\text{Amostra}} \times \text{Fator} = 0,035 \times 4112 = 144 \text{ U/L}$$

Método de controle de qualidade

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (Laborcontrol 1 e Laborcontrol 2 da Laborlab) com atividades conhecidas de creatina quinase, com cada determinação.

Valores de referência

Temperatura	25°C	30°C	37°C*
Homens	até 80 U/L	até 130 U/L	até 195 U/L
Mulheres	até 70 U/L	até 110 U/L	até 170 U/L

(*) Calculados

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

Conversão de unidades ao sistema SI

Creatina quinase (U/L) x 0,017 = Creatina quinase (ukat/L)

Limitações do procedimento

Vide "Interferências".

Desempenho

a) Reprodutibilidade: aplicando o protocolo EP-15A do CLSI, analisaram-se dois níveis de atividade, cada um por quadruplicado durante 5 dias. Com os dados obtidos, calcularam-se as precisões intra-ensaio e total.

Precisão intra-ensaio (n = 20)

Nível	D.P.	C.V.
162 U/L	± 1,08 U/L	0,66 %
362 U/L	± 1,61 U/L	0,44 %

Precisão total (n = 20)

Nível	D.P.	C.V.
163 U/L	± 4,10 U/L	2,51 %
356 U/L	± 6,72 U/L	1,89 %

b) Linearidade: normalmente, a reação é linear até um $\Delta\text{A}/\text{min}$ de 0,130 D.O. (aproximadamente 550 U/L). Para valores superiores, diluir a amostra 1/2 ou 1/5 com solução fisiológica e repetir a determinação, respeitando as mesmas condições de ensaio e multiplicando os resultados pela diluição efetuada. Em analisadores automáticos pode-se observar uma linearidade até 1800 U/L.

c) Sensibilidade analítica: depende do fotômetro empregado e da comprimento de onda. Em espectrofotômetros a 340 nm com cubas de fases paralelas de 1 cm de espessura, para um $\Delta\text{A}/\text{min}$ de 0,001 a mudança mínima de atividade detectável será de 8 U/L.

Parâmetros para analisadores automáticos

Para a programação consultar o manual de uso do analisador a ser utilizado.

Apresentação

1 x 50 mL Reagente A
1 x 10 mL Reagente B
(Cód. 1770070)

Referência

- D.G.K.C. - Z. Klin. Chem. 10:281 (1972).
- S.S.C.C. - Scand. J. Clin. Lab. Invest. 33:291 (1974).
- I.F.C.C. - Clinica Chimica Acta 105:147 F (1980).
- I.F.C.C. - Ann. Biol. Clin. 44/4:419 (1986).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCPress, 5th ed., 2000.
- Stein, W. - Med. Welt. 36:572 (1985).
- Szasz, G.; Busch, E.W. - 3rd European Congress of Clinical Chemistry, Brighton, England, 3-8 June, 1979.
- NCCLS document "Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods", EP6-P, (1986).
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocols EP 15A, 2001 / EP 17A, 2004.

SÍMBOLOS



Este produto preenche os requisitos da Diretiva Européia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado na Comunidade Européia



Uso médico-diagnóstico "in vitro"



Conteúdo suficiente para <n> testes



Data de validade



Limite de temperatura (conservar a)



Não congelar



Risco biológico



Volume após da reconstituição



Conteúdo



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caústico



Irritante



Consultar as instruções de uso



Calibrador



Controle



Controle Positivo



Controle Negativo



Número de catálogo

Termo de garantia

Este Kit como um todo tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Departamento Técnico da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda. que não houve falhas técnicas na execução e manuseio deste kit, assim como em sua conservação.



Produtos para Laboratórios Ltda.
Estrada do Capão Bonito, 489
Guarulhos - SP - Brasil - CEP: 07263-010
CNPJ: 72.807.043/0001-94
Atendimento ao cliente:
+55 (11) 2480 0529/+55 (11) 2499 1277
sac@laborlab.com.br
www.laborlab.com.br