

Finalidade

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

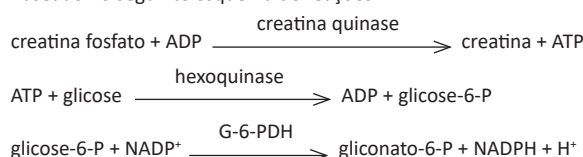
Significado clínico

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') pentafofato	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 absorbância 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), triglicerídeos 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 absorbância)

- 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 absorbância a uma leitura de referência e disparar simultaneamente o cronômetro. Registrar a absorbância depois de 1-2 e 3 minutos da primeira leitura. Determinar a diferença média de absorbância/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), mas 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
Absorbância A1	0,289		
Absorbância A2	0,324	0,035	
Absorbância A3	0,358	0,034	
Absorbância 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

Obtenção do fator de calibração:

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

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

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 $\Delta A/\text{min}$ 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 $\Delta A/\text{min}$ 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)

4 x 50 mL Reagente A
2 x 20 mL Reagente B
(Cód. 1779609)

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", AACC Press, 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 Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado na Comunidade Europeia



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

Fin y uso

Método UV optimizado (IFCC) para la determinación de Creatina Kinasa (CK) en suero o plasma

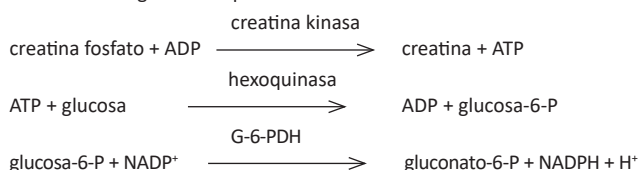
Significación clínica

La creatina kinasa (CK) es una enzima intracelular localizada en mayor proporción en músculos cardíaco y esquelético y también en cerebro. Un aumento en la actividad sérica, es por lo tanto indicio de lesión celular.

En el caso del infarto agudo de miocardio (IAM), la actividad sérica de CK comienza a aumentar entre 2 y 6 horas después de producido el episodio y alcanza un máximo después de 18 a 24 horas. Los picos alcanzados pueden llegar a ser 20 veces el límite superior normal, razón por la cual es quizás la prueba más sensible para el diagnóstico de IAM.

Fundamentos del metodo

Basado en el siguiente esquema reaccionante:



En la reacción interviene la N-acetilcisteína (NAC) como activador de la creatina kinasa, recomendado por la I.F.C.C.

Reactivos provistos

A. Reactivo A: solución de buffer imidazol.

B. Reactivo B: solución de componentes conteniendo creatina fosfato y componentes reactivos en cantidades suficientes para las siguientes concentraciones finales:

imidazol	100 mmol/l; pH 6,7
creatina fosfato.....	30 mmol/l
ADP	2 mmol/l
glucosa.....	20 mmol/l
NADP	2 mmol/l
hexoquinasa	≥ 2500 U/l
glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH).....	≥ 2000 U/l
acetato de magnesio	10 mmol/l
AMP	5 mmol/l
di-(adenosina-5') pentafofato	10 umol/l
N-acetilcisteína.....	20 mmol/l

Instrucciones para su uso

Reactivos Provistos: listos para usar. Estos pueden usarse separados o como **Reactivo único**, mezclando 5 partes de Reactivo A con 1 parte de Reactivo B (ej.: 5 ml Reactivo A + 1 ml Reactivo B).

Precauciones

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

Estabilidad e instrucciones de almacenamiento

Reactivos Provistos: son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Una vez abiertos, no deben permanecer fuera del refrigerador por períodos prolongados. Evitar contaminaciones.

Reactivo único (premezclado): estable 20 días en refrigerador (2-10°C) a partir de la fecha de su preparación.

Indicios de inestabilidad o deterioro de los reactivos

Cuando el espectrofotómetro ha sido llevado a cero con agua destilada, lecturas de absorbancia del Reactivo único > 0,800 D.O. (a 340 nm) son indicio de deterioro del mismo.

Muestra

Suero o plasma heparinizado

a) Recolección: se debe obtener de la manera usual.

b) Aditivos: en caso de emplear plasma, debe usarse heparina como anticoagulante.

c) Sustancias interferentes conocidas: no interfieren bilirrubina hasta 390 mg/l (39 mg/dl), triglicéridos hasta 12,5 g/l (1250 mg/dl) ni hemoglobina hasta 0,15 g/dl (150 mg/dl). Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la muestra debe ser preferentemente fresca. Puede conservarse hasta 1 semana en refrigerador (2-10°C).

Material requerido (no provisto)

- Espectrofotómetro.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Baño de agua a la temperatura indicada en el procedimiento.
- Cronómetro.

Condiciones de reacción

(Aumento de absorbancia)

- Longitud de onda: 340 nm (Hg 334 ó 366).
- Temperatura de reacción: 25, 30 ó 37°C. Ver los VALORES DE REFERENCIA correspondientes a cada temperatura.
- Tiempo de reacción: varía de acuerdo al procedimiento seleccionado.

Procedimiento

TECNICA CON REACTIVO UNICO

Llevar el aparato a cero con agua destilada.

A) 30 - 37°C

En una cubeta mantenida a 30-37°C, colocar:

Reactivo único	1 ml
----------------	------

Preincubar 3-4 minutos. Luego agregar:

Muestra	40 ul
---------	-------

Mezclar inmediatamente y esperar 3 minutos. Ajustar la absorbancia a una lectura de referencia disparando simultáneamente el cronómetro. Registrar la absorbancia luego de 1, 2 y 3 minutos de la primera lectura. Determinar la diferencia promedio de absorbancia/min ($\Delta A/\text{min}$), restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.

B) 25°C

Seguir el procedimiento indicado en A), pero empleando 80 ul de Muestra y esperando 4 minutos luego del agregado de la misma.

Cálculo de los resultados

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

En cada caso deberá emplearse el factor de cálculo correspondiente, como se indica en la siguiente tabla:

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

Ejemplo:

(Los datos presentados a continuación son ilustrativos)

	Muestra	Diferencia	Promedio
Absorbancia A1	0,289		
Absorbancia A2	0,324	0,035	
Absorbancia A3	0,358	0,034	
Absorbancia A4	0,395	0,037	0,035

Utilizando factor teórico (37°C):

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

Se se utiliza Laborcal como calibrador:

Concentración de CK en el calibrador: 329 U/L (37°C)

	Calibrador	Diferencia	Promedio
Absorbancia A1	0,247		
Absorbancia A2	0,329	0,082	

Absorbancia A3	0,409	0,080	
Absorbancia A4	0,488	0,079	0,080

Obtención del factor de calibración:

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

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

Método de control de calidad

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Laborcontrol 1 y Laborcontrol 2** de Laborlab) con actividades conocidas de creatina kinasa, con cada determinación.

Valores de referencia

Temperatura	25°C	30°C	37°C ^(*)
Varones	hasta 80 U/l	hasta 130 U/l	hasta 195 U/l
Mujeres	hasta 70 U/l	hasta 110 U/l	hasta 170 U/l

^(*)Calculados

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

Conversión de unidades al sistema SI

Creatina kinasa (U/l) x 0,017 = Creatina kinasa (ukat/l)

Limitaciones del procedimiento

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

Performance

a) Reproducibilidad: se aplicó el protocolo EP15-A del CLSI. Se analizaron dos niveles de actividad, cada uno por cuadruplicado durante 5 días. Con los datos obtenidos, se calcularon la precisión intraensayo y total.

Precisión intraensayo (n = 20)

Nivel	D.S.	C.V.
162 U/l	± 1,08 U/l	0,66 %
362 U/l	± 1,61 U/l	0,44 %

Precisión total (n = 20)

Nivel	D.S.	C.V.
163 U/l	± 4,10 U/l	2,51 %
356 U/l	± 6,72 U/l	1,89 %

b) Linealidad: normalmente, la reacción es lineal hasta un $\Delta A/\text{min}$ de 0,130 D.O. (aproximadamente 550 U/l). Para valores superiores diluir la muestra 1/2 ó 1/5 con solución fisiológica y repetir la determinación respetando las mismas condiciones de ensayo y multiplicando los resultados por la dilución efectuada. En analizadores automáticos puede observarse una linealidad de hasta 1800 U/l.

c) Sensibilidad analítica: depende del fotómetro empleado y de la longitud de onda. En espectrofotómetros a 340 nm con cubetas de caras paralelas de 1 cm de espesor, para un $\Delta A/\text{min}$ de 0,001 el mínimo cambio de actividad detectable será 8 U/l.

Parámetros para analizadores automáticos

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso.

Presentación

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

4 x 50 mL Reactivo A
2 x 20 mL Reactivo B
(Cód. 1779609)

Bibliografía

- 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", AACC Press, 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.

SIMBOLOS



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Cáustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control



Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo