

Ref. BA076

MS 81666810022

Método

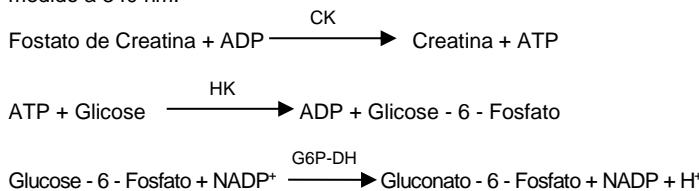
Cinético UV (IFCC).

Finalidade

Sistema para a determinação quantitativa da atividade das isoenzimas Creatinoquinase (CK) no soro ou pasma (heparinizado), por reação cinética. **Somente para uso diagnóstico in vitro.**

Princípio

A creatina quinase (CK) catalisa a fosforilação do ADP por fosfato de creatina, obtendo-se creatina e ATP. A concentração catalítica determina-se, empregando as reações acasaladas da hexoquinase e glucose-6-fosfato desidrogenase, a partir da velocidade de formação do NADPH, medido a 340 nm.



Significado Clínico

A creatina quinase (CK) desempenha uma importante função no músculo proporcionando ATP, quando o músculo se contraí, a partir de ADP e utilizando creatina fosfato como reservatório de fosforilação. A CK sérica deriva fundamentalmente do músculo e a sua concentração depende de uma série de variantes fisiológicas (sexo, idade, massa muscular, atividade física e raça). A concentração sérica de CK encontra-se notavelmente elevada em pacientes com algumas das doenças do músculo esquelético (distrofia muscular, miosite, polimiosite, hipertermia maligna, trauma, rabdomiólise aguda), do sistema nervoso central (doenças cerebrovasculares aguda, isquemia cerebral, síndrome de Reye) e de tiroídes (hipotirooidismo). Observam-se concentrações elevadas de CK ao cabo de 3-6 horas de um infarto de miocárdio alcançando valores máximos às 24-36 horas. A concentração volta à normalidade em 3 e 4 dias devido à enzima ser rapidamente eliminado do plasma. O diagnóstico clínico não se deve realizar tendo em conta o resultado de um único teste, mas deve integrar-se nos dados clínicos e de laboratório.

Reagentes

Reagente nº 1 - Tampão - Tampão Imidazol 100 mM pH 6,7, EDTA 2 mM, Acetato de Magnésio 10 mM, D-glicose 20 mM, Azida Sódica 0,09% p/v.

Reagente nº 2 - Substrato - Creatino-fosfato 30 mM, ADP 2 mM, AMP 5 mM, Diadenosina 5 pentafosfato 10 mM, NADP 2 mM, N-acetilcisteína 20 mM, EDTA 2 mM, Hexoquinase > 3.000 U/L, Glicose-6-fosfato desidrogenase > 2.500 U/L, Azida Sódica 0,09% p/v.

Estabilidade, Condições de Armazenamento e Transporte

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo do produto, quando conservados na temperatura recomendada (2 a 8°C), bem vedados e se evitado de contaminação durante o uso.

Antes de serem abertos, os reagentes podem ser transportados em temperatura que não exceda 30°C, até um limite de 120 horas.

Não congelar.

Cuidados Especiais e Precauções

- As amostras a serem analisadas devem ser tratadas como material potencialmente infectante.
- Utilizar os EPI's de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico.
- As informações de Descarte, Segurança e Primeiros Socorros estão descritas na Ficha Individual de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) deste produto, disponível em www.bioanalitica.com.br.
- Reagentes de lotes diferentes não devem ser misturados.
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada.
- Evitar deixar os reagentes fora das condições de armazenamento especificadas, quando os mesmos não estiverem em uso.
- O tempo de reação, pipetagens e temperatura de trabalho são muito importantes para obtenção de resultados corretos.
- Usar ponteiras descartáveis específicas para cada amostra, controle, padrão/calibrador e reagente.
- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação do reagente.
- Os reagentes R1 e R2 possuem azida sódica. Não ingerir ou aspirar. Evitar contato com a pele e mucosa;

Materiais Necessários e Não Fornecidos

- Analisador bioquímico automático ou semiautomático;
- Pipetas de vidro e/ou automáticas;
- Ponteiras;
- Estantes;
- Tubos de ensaio;
- Cronômetro.

Amostras

Soro e plasma (heparinizado). A creatina quinase é estável por 2 dias se conservada em temperatura de 2 a 8°C.

Realizar a coleta da amostra conforme Boas Práticas de Laboratório Clínico. As amostras a serem analisadas devem ser tratadas como material potencialmente infectante.

Interferências e Limitações

Todos os anticoagulantes interferem na dosagem.

Hemólise, Icterícia e Lipemia: Hemoglobina > 200 mg/dL, Bilirrubina > 30 mg/dL e Triglicérides > 2000 mg/dL.

Preparo do Reagente de Trabalho

Misturar na proporção de: 4 partes de **Reagente nº 1 - Tampão** + 1 parte de **Reagente nº 2 - Substrato**. Homogeneizar suavemente. Estável 14 dias de 2 a 8°C. Manter o Reagente de Trabalho ao abrigo da luz.

Nota: Recomendamos o uso do Calibrador – Ref. BA052 para calibração. Para avaliar a precisão das dosagens, recomendamos o uso do Controle N – Ref. BA115 e Controle P – Ref. BA118.

Procedimento Técnico

Equipamentos Automáticos

Para uso em analisadores automáticos, verificar o protocolo de automação no site www.bioanalitica.com.br ou através do SAC.

1. Zerar o equipamento de leitura com água purificada/deionizada em filtro de 340 nm.

2. Pipetar em tubos de ensaio:

Amostra/Calibrador	20 µL
Reagente de Trabalho	1,0 mL

3. Homogeneizar e inserir a tubo no instrumento. Acionar o cronômetro.

4. Aos 2 minutos, anotar a absorbância inicial (A0) e efetuar novas leituras após 1, 2 e 3 minutos (A1, A2 e A3 respectivamente).

Cálculos

Usando as leituras das absorbâncias, calcular a média da variação da absorbância por minuto ($\Delta A/\text{min}$):

$$\Delta A/\text{min} = \frac{(A1 - A0) + (A2 - A1) + (A3 - A2)}{3}$$

Para calcular a atividade do CK, deverá ser usado o fator:

$$\text{CK (U/L)} = \Delta A/\text{min} \times 8321$$

Exemplo:

$$\begin{array}{ll} A0 = 1,228 & A1 = 1,246 \\ A2 = 1,258 & A3 = 1,250 \end{array}$$

$$\Delta A/\text{min} = \frac{(1,246 - 1,228) + (1,258 - 1,246) + (1,270 - 1,258)}{3}$$

$$\Delta A/\text{min} = 0,014$$

$$\text{Creatinina Quinase (U/L)} = 0,014 \times 8321 = 116,5 \text{ U/L}$$

Características do Desempenho

Comparação de Métodos

Os resultados obtidos com estes reagentes não mostram diferenças sistemáticas significativas quando comparados com reagentes de referência. Os detalhes do estudo comparativo estão abaixo disponíveis.

Sensibilidade

Uma amostra proteica não contendo CK foi utilizada para calcular o limite de detecção do ensaio. A média e o desvio padrão foram calculados a partir

de 20 determinações. A sensibilidade que indica o limite de detecção do método é 2,4 U/L.

Linearidade

A reação é linear até 2000 U/L. Para valores superiores, diluir a amostra com NaCl 150 mM (0,9%), realizar nova dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

Repetibilidade

- Repetibilidade (intra-ensaio):

Concentração média	CV	n
175 U/L = 2917 nkat/L	1,8 %	20
567 U/L = 9452 nkat/L	0,7 %	20

Reprodutibilidade

- Reprodutibilidade (inter-ensaio):

Concentração média	CV	n
175 U/L = 2917 nkat/L	1,3 %	25
567 U/L = 9452 nkat/L	1,1 %	25

Valores de Referência

Estes valores de referência devem ser usados apenas como orientação. Sugere-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores para população atendida. Os resultados dos testes devem ser analisados por um profissional responsável.

Temperatura de Reação 37 °C	Homens	Mulheres
	24 a 195 U/L	24 a 170 U/L

Conversão para Unidade do Sistema Internacional (SI): $\mu\text{kat/L}$
Creatina Quinase (U/L) $\times 0,017 = \text{Creatina Quinase } (\mu\text{kat/L})$

Controle Interno da Qualidade

O laboratório clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, para assegurar que todos os procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente definidos. Ressaltamos que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica, que deve ser monitorada pelos laboratórios. Portanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens. Sugere-se utilizar soluções estabilizadas da linha de controles e calibradores da Bioanalítica.

Observações

- A limpeza e secagem adequadas do material usado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes. A limpeza da vidraria deve ser feita com detergente neutro. O enxágue deve ser exaustivo sendo os últimos com água destilada ou deionizada.
- Para o enxágue inicial da vidraria, a água pode ser do Tipo III, com resistividade $> 0,1$ megahoms ou condutividade < 10 microsiemens. No enxágue final, utilizar água do Tipo II. Coluna deionizadora com sua capacidade saturada libera água alcalina, vários íons e também substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando de maneira imprevisível os resultados. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.
- A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, a água deve ser do Tipo II, com resistividade > 1 megaohms/cm ou condutividade < 1 microsiemens/cm e concentração de silicatos $< 0,1$ mg/L.

Referências Bibliográficas

1. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C, Part.
2. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of creatine kinase. Clin Chem Lab Med 2002; 40:635-642.
2. IFCC reference procedures for measurement of catalytic concentrations of enzymes: corrigendum, notes and useful advice. Clin Chem Lab Med 2010; 48: 615-621.
3. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.
7. Bioanalítica: Dados internos de arquivo do P&D.

Termos e Condições de Garantia

A Bioanalítica Diagnóstica garante o desempenho e a qualidade deste produto, dentro das especificações, até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que utilizados, armazenados e transportados nas condições adequadas.

Apresentação

Ref.	Volume	Reagente 1	Reagente 2
BA076-50	50 mL	1 x 40 mL	1 x 10 mL

Bioanalítica Diagnóstica S/A.

Rua Álvares da Silva, 12 - União

CEP: 31160-360 – Belo Horizonte MG - Brasil

Tel. +55 31 3657-0051

www.bioanalitica.com.br

E-mail: bioanalitica@bioanalitica.com.br

CNPJ: 20.264.948/0001-61 – Indústria Brasileira

SAC: 0800 006 8111

E-mail: sac@bioanalitica.com.br

Revisão: Junho / 2023.