

CK-NAC Cepa - Cinética UV

Método

IFCC – Cinético UV

Finalidade

Kit para determinação da atividade enzimática da creatinoquinase (CK) total, em amostras de soro.

Princípio do método

A creatinoquinase catalisa a fosforilação do ADP pela creatina fosfato obtendo-se creatina e ATP. A concentração catalítica é determinada utilizando as reações acopladas da hexoquinase (HK) e glicose-6-fosfato desidrogenase (G6P-DH), a partir da velocidade de formação de NADPH, medida espectrofotometricamente em 340 nm.

Reagentes fornecidos

1. Tampão: Imidazole 125 mmol/L, EDTA 2 mmol/L, acetato de magnésio 12,5 mmol/L, D-glucose 25 mmol/L, N-acetilcisteína 25 mmol/L, hexoquinase 6000 U/L, NADP 2,4 mmol/L, pH 6,7. (1x40 mL)
2. Substrato: Fosfato de creatina 250 mmol/L, ADP 15 mmol/L, AMP 25 mmol/L, P1,P5-di(adenosina-5')-pentafosfato 102 ?mol/L, glucose-6-fosfato desidrogenase 8000 U/L (1x10 mL)

Condições de uso e armazenagem

A data de validade aparece no rótulo da embalagem. Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.

Todos os reagentes devem ser mantidos sob refrigeração na faixa de 2 a 8°C. Manter ao abrigo da luz. Os reagentes devem permanecer fora do refrigerador somente o tempo necessário para as dosagens.

Insumos e equipamentos necessários não fornecidos

- Água destilada ou deionizada
- Banho-maria
- Cronômetro
- Espectrofotômetro
- Pipetas manuais ou automáticas
- Ponteiras descartáveis
- Vidraria

Precauções e cuidados especiais

- Somente para uso diagnóstico "in vitro".
- Não misturar ou trocar lotes de reagentes diferentes.
- Evitar contaminação microbiana dos reagentes e não utilizar reagentes que tenham sinais de contaminação ou precipitação.
- Caso haja contato com quaisquer reagentes lavar a área afetada com água em profusão. Em caso de ingestão de reagentes procurar auxílio médico imediato munidos desta instruções de uso.
- Utilizar equipamentos de proteção individual segundo normas de biossegurança.
- A água (destilada ou deionizada) utilizada na limpeza do material ou nos procedimentos deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- Certificar-se das condições adequadas de funcionamento dos equipamentos de análise.
- O descarte do material utilizado deve ser feito segundo os critérios de biossegurança.
- Lavar as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.

Amostra biológica

- Soro.

A CK em soro é estável durante 7 dias quando mantida entre 2 e 8°C. O uso de

anticoagulantes interfere.

Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante. Usar luvas descartáveis durante a manipulação do material biológico. As amostras devem ser descartadas, após o uso, em recipientes específicos para este fim. Não dispensar em coletores de lixo comuns ou nas redes de água e esgoto.

Procedimento

Ler cuidadosamente, as instruções desta bula.

Preparo do reagente:

Verter o conteúdo do frasco do Reagente nº 2 (Substrato) no frasco de Reagente nº 1 (Tampão) e homogeneizar bem. É recomendável a transferência de parte do homogeneizado para o frasco de Reagente nº 2 (Substrato), com o objetivo de se obter a diluição completa do reagente contido no mesmo; após homogeneizar, verter novamente o conteúdo no frasco de Reagente nº 1. Rotular como Reagente de Trabalho. Este reagente é estável, sob refrigeração, na faixa de 2 a 8°C, durante 15 dias se mantido fora do refrigerador somente o tempo necessário para as dosagens e protegidos da luz.

Obs.: podem ser preparados volumes menores de reagente de trabalho, desde que respeitada a proporção de 1mL do Substrato + 4 mL de Tampão.

Dosagem :

1. Permitir que reagentes e amostras atinjam a temperatura ambiente;
2. Pré-aquecer o espectrofotômetro e o reagente de trabalho a 37°C.
3. Acertar o zero do espectrofotômetro com água destilada ou deionizada.
4. Pipetar em uma cubeta termostatizada a 37°C como a seguir:

Método	Micro	Macro
Amostra	25µL	50µL
Reagente de trabalho	0,5mL	1,0mL

5. Homogeneizar rapidamente e inserir em um porta-cubetas termostatizado a 37°C e acionar o cronômetro. Realizar as leituras em 340 nm.
6. Aos 3 minutos, anotar a absorbância inicial (A0) e efetuar novas leituras, a cada minuto, durante 3 minutos, sendo, respectivamente A1, A2 e A3.
6. Comprovar que a diferença entre as absorbâncias sejam sensivelmente semelhantes;
7. Calcular a média das diferenças das absorbâncias por minuto(DA / min), que será usada nos procedimentos de cálculo.

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

Cálculos

Considerando que o coeficiente de absorção molar do NADH a 340 nm é 6.300, se deduzem as seguintes fórmulas para calcular a concentração catalítica:

- Macro - CK (U/L) = DA / min x 4127
- Micro - CK (U/L) = DA / min x 3333

Unidades SI: U/L x 16,67 = nKat/L

Linearidade

A reação é linear até 1300 U/L. Para valores acima do limite de linearidade, diluir a amostra com solução de NaCl 0,85% e repetir a dosagem. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição empregado.

Valores de referência

- Soro: Homens: 38 a 174 U/L - 633-2900 nKat/L *
- Mulheres: 26 a 140 U/L- 433-2334 nKat/L *

* Estes valores são dados apenas a título orientativo. É recomendável que cada laboratório estabeleça sua própria faixa de valores de referência.

Controle de qualidade

O laboratório deve ter como prática de rotina o uso de soros controle comerciais. Preferencialmente deve participar de programas de controle externo de qualidade, a exemplo daqueles oferecidos pela SBAC e SBPC.

Dados estatísticos de desempenho do teste

Recuperação: 102,3%.

Coeficiente de variação intra-ensaio (repetitividade): A realização de 20 determinações de uma mesma amostra com valor dentro da faixa de referência, mostrou um coeficiente de variação igual a 1,8%. O mesmo procedimento para valores elevados mostrou um coeficiente de variação igual a 0,7%.

Coeficiente de variação inter-ensaio (reprodutibilidade): A realização de 20 determinações de uma mesma amostra com valor dentro da faixa de referência, mostrou um coeficiente de variação igual a 1,3%. O mesmo procedimento para valores elevados mostrou um coeficiente de variação igual a 1,1%.

Interferentes

Amostras hemolisadas e/ou hiperlipêmicas devem ser evitadas.

Referências bibliográficas

1. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. JIFCC 1989; 1:130-139.
2. JIFCC 1989;130-139

Apresentação

Número de testes Macro: 50

Número de testes Micro: 100

Automação

Os reativos podem ser utilizados em analisadores automáticos. Vide programação no verso ou solicite informações ao seu distribuidor.

Dados do fabricante

MBiolog Diagnósticos Ltda

Rua Gama, 337 – Vila Paris – Contagem – MG – CEP 32372-120

Resp. Técnico: Fabrício Galvão de Brito – CRF-MG 9587

SAC - Serviço de Atendimento ao Cliente

• (31) 3507 - 0707

• sac@mbiolog.com.br

COBAS MIRA / PLUS®	
GENERAL	
MEASUREMENT MODE	ABSORB
REACTION MODE	R-S - 1
CALIBRATION MODE	FACTOR - 1
REAGENT BLANK	REAG/DIL - 2
CLEANER	NO - 1
WAVELENGTH	340 nm - 1
DECIMAL POSITION	0 (U/L)
UNIT	21 (/UL)

EXPRESS 550/PLUS®

TEST NAME: CK- NAC TEST: CKNAC

TEST BAR CODE: IPU* TEST TYPE: KINETC CURVE TYPE:: BLAN. LINEAR

UNITS: U/L N° OF DECIMAL PLACE: 1

PRIMARY WAVELENGHT: 340 SECONDARY WAVELENGHT: -

READ TIME / INTERVAL: 30 SAMPLE BLANK: NO

FACTOR: 4600

CALIBRATION INTERVAL: 180 h N° OF REPLICATES: 2

N° OF CALIBRATOR: IPU*

LOW BLANK A LIMIT: -0.100 **HIGH BLANK A LIMIT: 0.500**
LOW A LIMIT: -0.200 **HIGH A LIMIT: 2.000**
LOW NORMAL: 24 **HIGH NORMAL: 195**
LINEARITY LIMIT: 900 **CURVE S.D. LIMIT: 8**
SAMPLE VOLUME: 12 μ L **TEST: CK-MB**
SAMPLE DILUENTE BOTTLE TYPE: PREDILUITON RATIO: 1
REAGENT DILUENTE BOTTLE
REAGENT DILUENT: VOL. RAG. BD DIL LAG TIME BT
REAGENT 1: 300 200 *
IPU: Inserido Pelo Usuário
***: Entre com o tipo de frasco utilizado. Plástico ou Vidro**
Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.

BIO 2000 & LABQUEST®

RA-50®	
TEMPERATURA	37
VOLUME DA AMOSTRA	25
VOLUME DO REAGENTE	500
FATOR	3333
VALOR NORMAL	26 A 174
MODELO DE REAÇÃO	CIN. ENZIMÁTICA
UNIDADES	U/L
COMPRIMENTO DE ONDA	340
INTERVALO DE TEMPO	60 S

ESTABILIZAÇÃO	180
NÚMERO DE LEITURAS	3
INCLINAÇÃO DA REAÇÃO	CRESC
LINEARIDADE	730
DM / PRECISÃO DO RESULT	20 % / 1
VOLUME DE ASPIRAÇÃO	500

RA-100®

BTS-310®	
LOCALIDAD	IPU*
NOMBRE TECNICA	CK-NAC
UNIDADES	4
MODO DE CÁLCULO	CDF
MODO DE LECTURA	-
FILTRO REFERENCIA	-
FILTRO LECTURA	340
FATOR	Macro =4127 / Micro = 3333
TIEMPO ESTBILIDAD	1

TIEMPO INTERVALO	60
NÚMERO DE	3
VOLUME DE	400
TIPO DE REACION	Crescente
ESTANDAR	-
Nº ESTANDARTES	-
DUP. ESTANDARTES	-
DUP. MUESTRAS	-
ESCALAS ABS	-

CONC.	-
FACTOR DILUCION	-
TEMPERATURA	37°C
ABBOT VP®	
NAME INDEX – TES NAME	17
TEMPERATURE	37°C
FILTER ID CODE	43 (340/380)
UNITS	07 (U/L)

DILUITION 1:	51 (1:51)	END POINT	NO
REV. TIME	2	BGN PRT REVOLUTION	4
AUX. DISP	NO	PRT REVOLUTION	1
FRR	YES	INITIAL REAGENT AD	0,4
REACTION UP	YES	UP LIMIT	YES
STANDARD	NO	SUBSTRATE DEPLECTION	2
REAG. BLANK	YES	REAG. DEGRADATION	20
ASSAY FACTOR	25500		

Todos os equipamentos são marcas registradas de seus fabricantes