

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')-pentafofato 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 munido 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.

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

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) 3394–9005 (Ramal: 211)

✉ sac@mbiolog.com.br

CALIBRATION MODE	FACTOR - 1
REAGENT BLANK	REAG/DIL - 2
CLEANER	NO - 1
WAVELENGTH	340 nm - 1
DECIMAL POSITION	0 (U/L)
UNIT	21 (/UL)
ANALYSIS	
POST. DIL FACTOR	5
CONC. FACTOR	NO - SPACE
SAMPLE CYCLE	1
VOLUME	8 µL
DILUTION NAME	H2O - 0
VOLUME	20 µL
REAGENT CYCLE	1
VOLUME	200 µL
CALCULATION	
SAMPLE LIMIT	NO - SPACE
REACTION DIRECTION	INCREASE - 1
CHECK	ON - 1
CONVERSION FACTOR	1
OFFSET / TEST RANGE LOW	0 / 0
HIGH	900 U/L
NORMAL RANGE LOW	26
HIGH	174
NUMBER OF STEPS	1
CALCULATION STEP A	KINSEARCH - 3
READING FIRST	8
LAST	13
REACTION LIMIT	NO - SPACE
CALIBRATION	
CALIBRATION INTERVAL	ON REQUEST - 3
TIME	NO - SPACE
REAGENTE RANGE LOW	NO - SPACE
HIGH	NO - SPACE
BLANK RANGE LOW	-0,20 ÅA
HIGH	0,20 ÅA
FACTOR	7540

Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.

EXPRESS 550/PLUS®	
TEST NAME: CK- NAC	TEST: CKNAC
TEST BAR CODE: IPU*	

TEST TYPE: KINETC	CURVE TYPE:: BLAN. LINEAR
UNITS: U/L	Nº OF DECIMAL PLACE: 1
PRIMARY WAVELENGHT: 340	SECONDARY WAVELENGHT: -
READ TIME / INTERVAL: 30	SAMPLE BLANK: NO
FACTOR: 4600	
CALIBRATION INTERVAL: 180 h	Nº OF REPLICATES: 2
Nº 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 µL	TEST: CK-MB
SAMPLE DILUENTE BOTTLE TYPE: *	PREDILUTION RATIO: 1
REAGENT DILUENTE BOTTLE TYPE:*	
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®			
MODO	CIN	INT. CIN	60
WLI	340	Nº DE INTERV	3
WL2		ÅA LIMIT	0,2
TEMP?	37°C	% LIM LIN	20
VOL ASP	400	DIR	INCR
RETARDO	120	ABS REAT MIN	0.85
FATOR	IPU*	ABS REAT MIN	1.85
UNDIDAD	U/L	VR/VN MIN	26
DECIMALS	0	VR/VN MAX	174
IMPRESSÃO	EXT		
Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.			
IPU: Inserido Pelo Usuário = Fator Macro 4127 / Fator Micro 3333			

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

Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.

RA-100®	
TEST Nº / TEST NAME	CK-NAC
UNITS	U/L
LOW NORMAL	26
HIGH NORMAL	174
FACTOR	8200
STAND. CON	-
TYPE	2
WAVELENGTH	340
SAMPLE VOLUME	6
SAMPLE PRIME VOL.	2,5
SAMPLE FLUSH VOL.	250
REAGENT. VOL	300
REAG. PRIME VOL.	12,5
REAG. FLUSH VOL.	450
INCUBATION TIME	140
REAG. ABS LOW	0.01
REAG. ABS HIGH	0.60
REACT. ABS LOW	0.02
REACT. ABS HIGH	1.20
MAX LIN RSLT	0,25
TEMPERATURA	37 °C
IPU* Inserido Pelo Usuário	
Utilizar calibrador ou soro controle para verificar os parâmetros da programação e, se necessário, para ajuste do fator.	

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 INCUBACION	180
TIEMPO INTERVALO	60
NÚMERO DE INTERVALOS	3
VOLUME DE ASPIRAÇÃO	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)
DILUTION 1:	51 (1:51)
REV. TIME	2
AUX. DISP	NO
FRR	YES
REACTION UP	YES
STANDARD	NO
REAG. BLANK	YES
ASSAY FACTOR	25500
END POINT	NO
BGN PRT REVOVUTION	4
PRT REVOLUTION	1
INITIAL REAGENT AD	0,4
UP LIMIT	YES
SUBSTRATE DEPLECTION	2
REAG. DEGRADATION	20

Todos os equipamentos são marcas registradas de seus fabricantes