



INSTRUÇÕES DE USO (Versão Out/20)

CK TOTAL

Método cinético UV

FINALIDADE

O conjunto é um sistema que se destina à determinação da creatina quinase total no soro ou plasma animal. Exclusivo para uso em diagnóstico "in vitro".

PRINCÍPIO DE AÇÃO

A determinação da creatina quinase por métodos enzimáticos combina a elevada especificidade de ação das enzimas com a simplicidade operacional envolvida. No presente método, a CK catalisa a reação entre a creatina fosfato e ADP, formando ATP, o qual fosforila a glicose sob a ação da hexoquinase formando a glicose-6-fosfato. A glicose-6-fosfato-desidrogenase oxida a glicose-6-fosfato em presença de NADP, que é reduzido a NADPH. A velocidade de aumento da concentração de NADPH no meio pode ser seguida espectrofotometricamente em 340 nm ou 365 nm, sendo proporcional à concentração de CK na amostra.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A Creatina Quinase (CK) é uma enzima que está presente no músculo cardíaco, cérebro e músculo esquelético. Assim, um aumento da CK circulante, deve estar associado a infarto agudo do miocárdio, doença cerebrovascular aguda e trauma ou doença do músculo esquelético. Após o infarto agudo do miocárdio, a CK aumenta entre 4 a 6 horas após o início dos sintomas, sendo o pico entre 18 a 30 horas e retorna ao nível normal em aproximadamente 72 horas, se não houver a ocorrência de novos episódios. A CK está presente em três isoenzimas que são separadas por eletroforeses e são formadas por diferentes tecidos corporais. A isoenzima CK-BB é a forma predominante no cérebro e no músculo liso, a CK-MM está presente no coração e músculo esquelético e a CK-MB é chamada de isoenzima cardíaca porque está especificamente no músculo cardíaco.

REAGENTES

Apresentação com 60 mL:

1.Tampão: 1 frasco com 48 mL, de solução tamponada em pH 6, 7, contendo EDTA 2 mmol/L, acetato de magnésio 10 mmol/L, glicose 20 mmol/L e creatina fosfato 30 mmol/L.

2.Enzimas: 1 frasco com 12 mL, contendo NADP 2 mmol/L, AMP 5 mmol/L, N-acetil-cisteína 20 mmol/L, diadenosina pentafosfato 10 mmol/L, Hexoquinase 2,5 KU/L, G-6-PDH 1,5 KU/L.

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

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

CUIDADOS NO ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DOS REAGENTES

- 1.As datas de fabricação e validade aparecem no rótulo da embalagem.
- 2.Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.
- 3.Todos os reagentes devem ser mantidos sob refrigeração, na faixa de 2-8°C.
- 4.Não congelar. Manter ao abrigo da luz.
- 5.Os reagentes devem permanecer fora do refrigerador apenas o tempo necessário para as dosagens.
- 6.Antes de serem abertos, os reagentes podem ser transportados em temperaturas na faixa de 15-25°C, até um limite de 48 horas.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- 1.Somente para uso diagnóstico "in vitro".
- 2.Evitar contaminação com íons metálicos ou agentes oxidantes.
- 3.O espectrofotômetro ou mesmo equipamentos automatizados devem ficar livres de contaminação microbiana, ser calibrados corretamente e receber manutenção de acordo com as instruções do fabricante.
- 4.Não misturar ou trocar diferentes lotes de reagentes.
- 5.Evitar contaminação microbiana dos reagentes e não utilizar reagentes que tenham sinais de contaminação ou precipitação.
- 6.Usar pipetas de vidro e ponteiros descartáveis separadas para cada amostra, controle (se utilizado) e reagente e não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada, o que poderia causar resultados errôneos.
- 7.Não dispensar os reagentes em tubulação contendo ferro galvanizado.
- 8.Caso haja contato com quaisquer desses reagentes, lavar imediatamente a área afetada com água em profusão. Em caso de ingestão acidental, procurar auxílio médico imediato.
- 9.Não comer, beber, fumar, armazenar ou preparar alimentos, ou aplicar cosméticos dentro da área de trabalho onde reagentes e amostras estiverem sendo manuseados.
- 10.Usar luvas descartáveis quando manusear amostras clínicas ou reagentes. Lavar sempre as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.
- 11.As amostras devem ser descartadas, após o uso, em recipientes específicos. Não dispensar em coletores de lixo comuns ou nas redes de água e esgotos.
- 12.Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante.

AMOSTRA

Soro ou plasma (Heparina).

Sob refrigeração (2-8°C), a CK no soro ou plasma é estável por 2 dias.

Nota: Não usar amostras hemolisadas.

PROCEDIMENTO

Preparo do Reagente de Trabalho: Misturar 1 (uma) parte do reagente 2 a 4 (quatro) partes do reagente 1 em um frasco, quimicamente limpo e agitar suavemente por inversão. Este reagente é estável 14 dias, se mantido ao abrigo da luz direta e fora da geladeira apenas o tempo necessário para as dosagens.

Dosagem (Soro ou Plasma):

Condições para os testes	
Temperatura de trabalho	37°C ± 0,5°C.
Comprimento de onda	340 nm

1-Pré-aquecer o Reagente de Trabalho durante 3 minutos a 37°C.

2-Acertar o zero do aparelho com água destilada.

3-Pipetar em um tubo de ensaio:

Reagente de Trabalho	Volume
Amostra	1000 µL 20 µL

4-Homogeneizar e transferir para uma cubeta termostatizada a 37°C. Acionar o cronômetro.

5-Depois 2 minutos, anotar a absorbância inicial A^o e efetuar novas leituras após 1, 2, 3 minutos (A1, A2 e A3 respectivamente). A média das diferenças entre as leituras, ΔA média, será usada nos cálculos abaixo.

CÁLCULOS

Usando as leituras das absorbâncias, calcular a média da variação da absorbância por minuto (ΔA/min);

$$\Delta A/\text{min} = \frac{(A_1 - A_0) + (A_2 - A_1) + (A_3 - A_2)}{3}$$

A atividade de CK-NAC na amostra é calculada pela multiplicação do ΔA/min, utilizando-se o seguinte fator:

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

Exemplo:

$$A_0 = 1,165 \quad A_1 = 1,178$$

$$A_2 = 1,190 \quad A_3 = 1,199$$

$$\Delta A/\text{min} = \frac{(1,178 - 1,165) + (1,190 - 1,178) + (1,199 - 1,190)}{3} = 0,011$$

$$\text{Creatinino Quinase (U/L)} = 0,011 \times 8321 = 91,5 \text{ U/L}$$

OBS: Para cálculo de Fator nas adaptações em analisadores automáticos utilizar coeficiente de absorvidade do NAD = 6,3.

VALORES DE REFERÊNCIA

	Valor Referência (37°C)
Mulheres	24-170 U/L
Homens	24-195 U/L

LINEARIDADE

A linearidade da reação é de 1000U/L. Para valores superiores, diluir a amostra com NaCl 150mM (0,9%), realizar nova dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

DADOS ESTATÍSTICOS DE DESEMPENHO DO TESTE

Sensibilidade: 4,16 U/L

Exatidão: A comparação com método similar validado (que também utiliza a metodologia enzimática no ultravioleta) demonstrou um coeficiente de correlação, r, igual a 0,9796 a partir da análise de amostras aleatórias oriundas de pacientes de ambulatório. A equação de regressão obtida foi: $y=1,0544x-4,2961$, que demonstra uma exatidão de 97%.

Precisão:

Repetibilidade: A realização de 20 determinações de uma amostra com valor dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados.

Repetibilidade	Amostra
Média	41,50
Desvio Padrão	3,68
Coefficiente de Variação (%)	8,9

Reprodutibilidade: A realização de 20 determinações de uma amostra, realizada por um operador diferente, utilizando o mesmo equipamento de medição, com valores dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados:

Reprodutibilidade	Amostra
Média	39
Desvio Padrão	3,74
Coefficiente de Variação (%)	9,6

AUTOMAÇÃO

Aplicações para analisadores automáticos estão disponíveis, se solicitadas.

CONTROLE DA QUALIDADE

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

INTERFERENTES

Anticoagulantes: EDTA, Citrato, Fluoreto e Oxalato, não devem ser usados, pois interferem na dosagem.

Hemólise, Ictericia e Lipemia: Hemoglobina ≥ 200 mg/dL; Bilirrubina ≥ 40 mg/dL; Triglicérides ≥ 900 mg/dL

Medicamentos: Valores falsamente elevados (Anfotericina B, Ampicilina, Carbenicilina, Clofibrato, Clorpromazine).

NOTA: *Várias condições não relacionadas ao miocárdio podem provocar elevação da CK total, por exemplo injeções intramusculares, traumas, cirurgias, intoxicação por barbitúricos e uso de anfotericina B.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. SCIENTIFIC DIVISION, WORKING GROUP ON ENZYMES. International Federation of Clinical Chemistry IFCC methods for measurement of catalytic concentration of enzymes. Clin. Chim. Acta. v. 281, v.1-2, p.S5-S39, 1999.

2. YOUNG, D.S. Effects of drugs on clinical laboratory tests - vol. 2, 5 ed. Washington DC: AACC Press, 2000.

3. WESTGARD, J. O. et al. A multi-rule shewhart chart quality control in clinical chemistry. Clin. Chem. v.27 p.493-501, 1981

APRESENTAÇÃO

60 mL	Volume
1. Tampão	1 x 48 mL
2. Enzimas	1 x 12 mL
3. Controle de CK MB	1 x 1 mL

CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

O desempenho deste sistema diagnóstico, medido pelas propriedades descritas nesta Instrução de Uso, está garantido até a sua data de vencimento, desde que obedecidas as seguintes condições:

1. A adesão estrita, pelo usuário, ao quadro de procedimento técnico.
2. As condições de armazenamento estarem de acordo com o recomendado nesta Instrução de Uso.
3. Os materiais necessários e não fornecidos com o produto, estarem em boas condições de uso.

ASSESSORIA TÉCNICA

Para esclarecimentos de dúvidas e Assessoria Técnica ligue:

(31) 3309-9262

e-mail: biofocovet@focovet.com.br



CNPJ: 71.437.917/0001-04

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA PRODUTOS DIAGNÓSTICOS "IN VITRO"	
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa)
	Material Calibrador
	Limite de temperatura (conservar a)
	Consultar instruções de uso
	Código do Produto
	Produto para Diagnóstico In Vitro
	Liofilizado
	Corrosivo
	Risco Biológico
	Tóxico
	Reagente
	Fabricado por
	Número de Lote