

CK-NAC Liquiform

Instruções de Uso

Ref.: 117

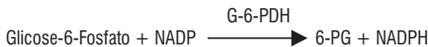
ANVISA 10009010019

Finalidade . Sistema para determinação quantitativa da atividade da Creatina Quinase Total (CK) em modo cinético em soro ou plasma.

Uso profissional.

[Somente para uso diagnóstico *in vitro*.]

Princípio¹⁻³ . A atividade da creatina quinase total é determinada de acordo com a seguinte seqüência de reações:



A CK catalisa a desfosforilação da creatina fosfato para produzir adenosina trifosfato (ATP), a qual reage com a glicose na presença da hexoquinase (HK) formando glicose-6-fosfato. A glicose-6-fosfato, na presença de glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PDH), é oxidada a 6-fosfogluconato (6-PG) e reduz o NADP a NADPH. A velocidade de incremento na absorvância em 340 nm é proporcional à atividade da CK na amostra.

Características do sistema . O método se baseia nas condições de reação otimizadas por Szasz⁴, que incorporou a ativação da CK com N-acetil cisteína (NAC). Esse método foi exaustivamente avaliado pela International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC)⁵, que recomendou sua utilização com concentrações de substâncias mais favoráveis às condições cinéticas e aos aspectos técnicos do sistema de medição.

O sistema CK-NAC Liquiform é rastreável ao método de referência da IFCC⁵ e ao material de referência ERM[®]-AD455/IFCC do Institute for Reference Materials and Measurements.

A utilização do calibrador, que contém CK-MM e MB humanas, propicia a correção da resposta do sistema de medição, obtendo assim, exatidão desejável dos resultados. A atividade enzimática da CK no calibrador é rastreável ao Procedimento Primário de Referência da IFCC⁵ e ao material de referência ERM[®] - AD455/IFCC.

O sistema CK-NAC Liquiform da Labtest utiliza medições em modo cinético e pode ser facilmente aplicado em analisadores automáticos e semi-automáticos capazes de medir absorvância em 340 nm, aplicando método birreagente ou monorreagente.

Metodologia . IFCC.

Reagentes

1. [R1] - Reagente 1 - Armazenar entre 2 - 8 °C.

Contém tampão imidazol 125 mmol/L, N-acetil-cisteína 25 mmol/L, ADP 2,5 mmol/L, AMP 6,25 mmol/L, diadenosina pentaosfato $\geq 12,5 \mu\text{mol/L}$, acetato de magnésio 12,5 mmol/L, NADP 2,5 mmol/L, hexoquinase $\geq 5000 \text{ U/L}$, G-6-PDH $\geq 3500 \text{ U/L}$, azida sódica 0,095% surfactante e estabilizadores.

2. [R2] - Reagente 2 - Armazenar entre 2 - 8 °C.

Contém tampão, glicose 100 mmol/L, creatina fosfato 150 mmol/L, azida sódica 0,095% surfactante e estabilizador.

3. [CAL] - Calibrador - Armazenar entre 2 - 8 °C.

Preparação liofilizada contendo tampão 50 mmol/L, cloreto de sódio 154 mmol/L, albumina bovina 3,5%, CK-MM e CK-MB de origem humana e estabilizadores. Ver, no rótulo do frasco, o valor assinalado da atividade enzimática.

Os reagentes não abertos, quando armazenados nas condições indicadas, são estáveis até a data de expiração impressa no rótulo. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminações de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

Precauções e cuidados especiais

Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente. Não utilizar o Reagente de Trabalho quando mostrar-se turvo ou com sinais de contaminação.

Os reagentes contêm azida sódica que é tóxica. Não ingerir e, no caso de contato com os olhos, lavar imediatamente com grande quantidade de água e procurar auxílio médico. A azida pode formar compostos altamente explosivos com tubulações de chumbo e cobre. Portanto, utilizar grandes volumes de água para descartar os reagentes.

Cuidados com o tempo de reação, temperatura de trabalho e pipetagens são extremamente importantes para obtenção de resultados corretos.

O Calibrador é preparado a partir de derivados de sangue humano e foi testado para a presença de HBsAg, anticorpos anti-HCV e anti-HIV apresentando resultados negativos. Apesar de terem sido utilizados testes validados e aprovados, nenhum deles pode assegurar que produtos derivados do sangue humano estejam livres de agentes infecciosos. Portanto, os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do produto, que não deve ser pipetado com a boca. Recomenda-se manuseá-lo como sendo potencialmente infectante.

Materiais necessários e não fornecidos

1. Fotômetro com cubeta termostatizada capaz de medir com exatidão a absorvância em 340 nm.
2. Pipetas para medir amostras e reagentes.
3. Cronômetro.

Influências pré-analíticas . Injeções intramusculares podem aumentar em até 5 vezes a atividade da creatina quinase.

O exercício físico pode elevar os valores da CK em até 3 vezes, havendo regressão dos valores 24 horas após o exercício. Nos casos de exercício prolongado a atividade pode aumentar até 24 vezes. Este aumento é menos significativo em indivíduos fisicamente condicionados.

Na gravidez normal ocorre uma diminuição significativa da atividade da CK entre a oitava e vigésima semanas.

Foi observado que a variação biológica individual pode chegar a 30% e que em indivíduos do sexo masculino após os 70 anos, a enzima se reduz com a idade.

O uso prolongado do torniquete pode produzir resultados falsamente elevados.

Amostra

Deve ser criado um Procedimento Operacional Padrão (POP) que estabeleça procedimentos adequados para colheita, preparação e armazenamento da amostra. Enfatizamos que os erros devidos à amostra podem ser muito maiores que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

Usar soro ou plasma colhido com EDTA ou heparina. A atividade enzimática é estável 24 horas entre 15 e 25 °C, 7 dias a 4 °C e 4 semanas a -20 °C. A amostra deve ser protegida da ação da luz.⁷

Amostras fortemente hemolisadas não são adequadas porque contêm níveis elevados de adenilato quinase, ATP e glicose-6-fosfato, capazes de produzir resultados falsamente elevados.

Como nenhum teste conhecido pode assegurar que amostras de sangue não transmitam infecções, todas elas devem ser consideradas como potencialmente infectantes. Portanto, ao manuseá-las deve-se seguir as normas estabelecidas para biossegurança.

Para descartar os reagentes e o material biológico sugerimos aplicar as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

Interferências

Valores de bilirrubina até 38 mg/dL e triglicérides até 1000 mg/dL não produzem interferências significativas. Valores de triglicérides maiores que 1000 mg/dL produzem resultados falsamente diminuídos.

Valores de hemoglobina até 120 mg/dL não produzem interferências significativas. Amostras com valores superiores não devem ser utilizadas porque podem conter níveis elevados de adenilato quinase, ATP e glicose-6-fosfato, capazes de produzir resultados falsamente elevados.

Para avaliar a concentração aproximada da hemoglobina em uma amostra hemolisada pode-se proceder do seguinte modo: Diluir 0,05 mL da amostra em 2,0 mL de NaCl 150 mmol/L (0,85%) e medir a absorvância em 405 ou 415 nm acertando o zero com água deionizada ou destilada.

$$\text{Hemoglobina (mg/dL)} \cong \text{Absorvância}_{405} \times 601$$

$$\text{Hemoglobina (mg/dL)} \cong \text{Absorvância}_{415} \times 467$$

Preparo do reagente de trabalho . Misturar 4 volumes do Reagente 1 e 1 (um) volume do Reagente 2. O Reagente de Trabalho é estável 14 dias entre 2 - 8 °C, mantido em recipiente fechado, quando não houver contaminação química ou microbiana.

Para preparar o volume de reagente necessário para realizar um teste, misturar 0,8 mL do Reagente 1 e 0,2 mL do Reagente 2.

Identificar o frasco como Reagente de Trabalho e data da preparação.

Para preservar seu desempenho o reagente deve permanecer fora da geladeira somente o tempo necessário para obter o volume a ser utilizado. Evitar exposição à luz solar direta.

Reconstituição do calibrador

Ver Observações 2 e 3

Remover o selo de alumínio e retirar cuidadosamente a tampa de borracha.

Utilizando uma pipeta volumétrica calibrada, adicionar ao frasco do calibrador o volume de água tipo II indicado no rótulo. Recolocar a tampa de borracha, deixar em repouso durante 10 minutos e homogeneizar suavemente por inversão. Antes de utilizar, homogeneizar suavemente e retirar a quantidade necessária para uso. Tampar imediatamente e armazenar entre 2 - 8 °C.

Após a reconstituição, o calibrador é estável 30 dias se armazenado entre 2 - 8 °C, bem vedado e protegido da luz. Para preservar o desempenho, manter o calibrador fora da temperatura de armazenamento somente pelo tempo mínimo necessário para se obter o volume a ser utilizado.

Para armazenamento por período superior a 30 dias sugerimos, após reconstituição, separar o calibrador em alíquotas e armazenar em temperatura inferior a 10 °C negativos por até 90 dias em recipiente hermeticamente fechado, protegido da luz. Para evitar evaporação do material durante o período de armazenamento é fundamental utilizar frascos adequados para congelamento (criotubos). As alíquotas do calibrador devem ser descongeladas somente uma vez.

O Calibrador deve ser manuseado de acordo com as boas práticas de laboratório para evitar contaminações de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

Procedimento

Ver Observações 1, 2 e 3

Condições de reação

comprimento de onda 340 nm
cubeta termostatizada a 37 ± 0,2 °C

1. Em um tubo contendo 1,0 mL do Reagente de Trabalho, adicionar 0,02 mL de Amostra ou Calibrador, homogeneizar e transferir imediatamente para a cubeta termostatizada a 37 °C. Esperar 2 minutos.

2. Registrar a absorbância inicial (A_1) e disparar simultaneamente o cronômetro. Após 2 minutos registrar a absorbância (A_2).

Para verificar a linearidade da reação, fazer também uma leitura com intervalo de 1 minuto e verificar se a diferença de absorbância em cada minuto é constante.

O procedimento sugerido para a medição é adequado para fotômetros cujo volume mínimo de solução para leitura é igual ou menor que 1,0 mL. Deve ser feita uma verificação da necessidade de ajuste do volume para o fotômetro utilizado. Os volumes de amostra e reagente podem ser modificados proporcionalmente sem prejuízo para o desempenho do teste e o procedimento de cálculo se mantém inalterado. Em caso de redução dos volumes é fundamental que se observe o volume mínimo necessário para a leitura fotométrica. Volumes da amostra menores que 0,01 mL são críticos em aplicações manuais e devem ser usados com cautela porque aumentam a imprecisão da medição.

Cálculos . Ver linearidade.

$$\Delta A/\text{minuto Teste} = \frac{A_2 - A_1}{2} \quad \Delta A/\text{minuto Calibrador} = \frac{A_2 - A_1}{2}$$

$$\text{Atividade da CK (U/L)} = \frac{\Delta A/\text{min Teste}}{\Delta A/\text{min Calibrador}} \times \text{CCal}$$

CCal: concentração do calibrador

Exemplo

Teste:

$$A_1 = 0,350 \quad A_2 = 0,378$$

$$\Delta A/\text{min Teste} = \frac{0,378 - 0,350}{2} = 0,014$$

Calibrador:

$$A_1 = 0,316 \quad A_2 = 0,381$$

$$\Delta A/\text{min Calibrador} = \frac{0,316 - 0,381}{2} = 0,033$$

Concentração do Calibrador (U/L): 268

$$\text{Atividade da CK (U/L)} = \frac{0,014}{0,033} \times 268 = 114$$

Obtenção do fator de calibração

$$\text{Fator} = \frac{\text{Ccal}}{\Delta A/\text{min Calibrador}}$$

$$\text{Atividade da CK (U/L)} = \Delta A/\text{min Teste} \times \text{Fator}$$

Exemplo

$$\text{Fator} = \frac{268}{0,033} = 8121$$

$$\text{Atividade da CK (U/L)} = 0,014 \times 8121 = 114$$

Calibração . Usar o Calibrador Ref. 117.3. A atividade enzimática da CK no calibrador é rastreável ao material de referência ERM[®]-AD455/IFCC e ao Procedimento Primário de Referência da IFCC.⁵

Calibrações manuais

Obter o fator de calibração quando o controle interno da qualidade indicar ou ao usar novo lote de reagentes.

Sistemas automáticos . Intervalo de calibrações

Calibração de 2 pontos (branco e calibrador) quando o controle interno da qualidade indicar;

Calibração de 2 pontos (branco e calibrador) ao mudar de lote.

Linearidade

O resultado da medição é linear até 2000 U/L. Para valores maiores diluir a amostra com NaCl 150 mmol/L (0,85%), realizar nova medição e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

Controle interno da qualidade . O laboratório deve manter um programa de controle interno da qualidade que defina claramente os regulamentos aplicáveis, objetivos, procedimentos, critérios para especificações da qualidade e limites de tolerância, ações corretivas e registro das atividades. Materiais de controle devem ser utilizados para monitorizar a imprecisão da medição e desvios da calibração. Sugere-se que as especificações para o coeficiente de variação e o erro total sejam baseadas nos componentes da variação biológica (VB).^{6,7,8}

Intervalo de referência . O intervalo deve ser usado apenas como orientação. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência na população atendida.

Crianças e Adolescentes⁹

Idade	Maculino (U/L)	Feminino (U/L)
01-03 meses	29-303	40-474
04-12 meses	25-172	27-242
13-24 meses	28-162	25-177
02-10 anos	31-152	25-177
11-14 anos	31-152	31-172
15-18 anos	34-147	28-142

Adultos

Mulheres	26-155 (U/L)
Homens	26-189 (U/L)

Conversão: Unidades Convencionais (U/L) x 0,0167 = Unidades SI ($\mu\text{kat/L}$).

Características do desempenho¹⁰

Estudos de Recuperação . Em duas amostras com concentrações de CK iguais a 328 e 1233 U/L foram adicionadas quantidades da enzima obtendo-se os seguintes resultados:

Atividade (U/L)

Inicial	Adicionada	Esperada	Encontrada	Recuperação (%)
328	233	561	560	99,8
1233	233	1466	1456	99,3

O erro sistemático proporcional médio estimado é igual a 0,5 U/L para o nível de decisão 122 U/L e 1,0 U/L para o nível de decisão 241 U/L.

Comparação de métodos . O método proposto foi comparado com o método de referência da IFCC⁵, sendo obtidos os seguintes resultados:

	Método Comparativo	Método Labtest
Número de amostras	22	
Intervalo de concentrações (U/L)	51-1563	54-1476
Equação da regressão	Método Labtest (mg/L) = 1,063 x Método Comparativo - 14,154	
Coefficiente de correlação	0,999	

Utilizando a equação da regressão, o erro sistemático total (bias) estimado é igual a 5,35% para um nível de decisão igual a 122 U/L e 3,34% para um nível de decisão igual a 485 U/L. Esses erros são menores que o erro sistemático da especificação ótima baseada na variação biológica que é de $\leq 5,8\%$, baseada nos componentes da VB.⁵

Estudos de precisão . Os estudos de precisão foram realizados no sistema Labtest/Labmax 240[®], utilizando amostras com valores de atividade iguais a 107 e 419 U/L.

Repetitividade - Imprecisão intra-ensaio

	N	Média (U/L)	DP	CV (%)
Amostra 1	20	107	2,80	2,61
Amostra 2		419	4,94	4,60

Reprodutibilidade - Imprecisão total

	N	Média (U/L)	DP	CV (%)
Amostra 1	20	107	1,65	0,39
Amostra 2		419	8,32	1,99

Sensibilidade metodológica . Limite de detecção: 8,9 U/L. Equivale a 3 desvios padrão (DP) obtido a partir de 20 medições de uma amostra com atividade de CK igual a 109 U/L.

Utilizando-se a absorbância mínima detectável como parâmetro, o limite de detecção fotométrica é 8,1 U/L correspondendo a uma diferença de absorbância igual a 0,001.

Efeitos da diluição da matriz . Duas amostras com valores iguais a 1535 e 1844 U/L foram utilizadas para avaliar a resposta do sistema nas diluições da matriz com NaCl 150 mmol/L (0,85%). Usando fatores de diluição que variaram de 2 a 16 foram encontradas recuperações entre 103 e 104%.

Significado clínico . A creatina quinase é um dímero composto de subunidades B e M e ocorre em três formas de isoenzimas: MM (CK3), MB (CK2) e BB (CK1). A enzima é encontrada em concentrações elevadas no músculo esquelético, músculo cardíaco, cérebro e trato gastrointestinal.

Os estudos de distribuição tissular indicam que o músculo esquelético é quase que completamente composto da isoenzima MM com quantidades mínimas da isoenzima MB. O cérebro e o trato gastrointestinal contém primariamente a isoenzima BB enquanto que o músculo cardíaco consiste aproximadamente de 80% da isoenzima MM e 20% da MB.

A CK total começa a se elevar 6 horas após o início do infarto agudo do miocárdio (IAM) e chega a um pico máximo após 12 - 24 horas, permanecendo elevada até 72 horas quando não ocorre um novo infarto. Os valores no pico máximo podem chegar a mais de 10 vezes o limite superior dos valores de referência. Em pacientes submetidos à terapêutica trombolítica a elevação da CK pode ocorrer mais precocemente por aumento da isoenzima MB conseqüente à reperfusão do miocárdio isquêmico.

Além do IAM, a CK está elevada nos casos de necrose do músculo cardíaco produzidas por miocardite grave.

As causas de elevação da CK conseqüentes à necrose ou atrofia aguda do músculo estriado são: cirurgia torácica ou cardíaca (os valores retornam à linha basal em 24-48 horas), cardioversão, distrofia muscular progressiva, esclerose lateral amiotrófica, poliomiosite, distrofia miotônica, traumas e queimaduras, rabdomiólise extensa, hipotermia maligna, hipotermia, status epilético, miopatia endócrina (hipotireoidismo, acromegalia, miopatia do hipoparatiroidismo) e uso de cocaína.

Observações

1. A limpeza e secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.

2. A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade ≥ 1 megaohm ou condutividade ≤ 1 microsiemens e concentração de silicatos $< 0,1$ mg/L (água tipo II). Para o enxágüe da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade $\geq 0,1$ megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágüe final utilizar água tipo II. Água alcalina ou contendo íons, silicatos e substâncias com grande poder de oxidação ou redução deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando os resultados de modo imprevisível. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

3. Vários fatores alteram o desempenho do calibrador. Dentre estes fatores estão os erros de reconstituição, homogeneização inadequada, contaminação da água ou vidraria e armazenamento incorreto.

Sugerimos o cumprimento das boas práticas de laboratório e a verificação das instruções do fabricante do instrumento e dos reagentes utilizados, relacionadas com as limitações do procedimento.

Referências

1. Oliver IT. J Lab Clin Med 1963;62:159.
2. Rosalki SB. J Lab Clin Med 1967;69:696.
3. The Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry. Scand J Clin Lab Invest 1979;39:1.
4. Szasz G, Gruber W, Bernt E. Clin Chem 1976;22:650.
5. IFCC. Part 2. Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Concentration of Creatine Kinase. Clin Chem Lab Med 2002; 40 (6): 635-642.
6. Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T. Clin Chem 1981;27:493-501.
7. Desirable Biological Variation Database Specification. Disponível em: < <https://www.westgard.com/optimal-biodatabase1.htm> > (acesso em 07/2020).
8. Basques JC. Especificações da Qualidade Analítica. Labtest Diagnóstica 2005.
9. Soldin SJ, Brugnara C, Wong EC: Pediatric Reference Intervals, 5.ed. Washington: AACCPress, 2005. p.69-70.
10. Labtest: Dados de Arquivo.

Apresentação

Produto	Referência	Conteúdo	
CK-NAC Liquiform	117-2/30	RI 1	2 X 24 mL
		RI 2	2 X 6 mL
		CAL	1 X 1 mL

Para informações sobre outras apresentações comerciais consulte o site www.labtest.com.br ou entre em contato com o SAC.

Estão disponíveis aplicações **para sistemas automáticos e semi-automáticos**.

O número de testes **em aplicações automáticas depende dos parâmetros de programação de cada equipamento**.

Informações ao consumidor

[Termos e Condições de Garantia]

A **Labtest Diagnóstica** garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções sejam seguidos corretamente.

Labtest Diagnóstica S.A.

CNPJ: 16.516.296/0001-38

Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - Vista Alegre - CEP: 33240-152
Lagoa Santa, Minas Gerais - Brasil - www.labtest.com.br

Serviço de Apoio ao Cliente | 0800 031 3411 (Ligação Gratuita)
e-mail: sac@labtest.com.br

Edição: Julho, 1994
Revisão: Fevereiro, 2023
Ref.: 230323(03)

Copyright by Labtest Diagnóstica S.A.
Reprodução sob prévia autorização

Símbolos utilizados com produtos diagnósticos in vitro

Símbolos usados con productos diagnósticos in vitro

Symbols used with ivd devices

	Conteúdo suficiente para < n > testes Contenido suficiente para < n > tests Contains sufficient for < n > tests		Risco biológico Riesgo biológico Biological risk
	Data limite de utilização (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa) Estable hasta (aaaa-mm-dd o mm/aaaa) Use by (yyyy-mm-dd or mm/yyyy)		Marca CE Marcado CE CE Mark
	Material Calibrador Material Calibrator Calibrator Material		Tóxico Tóxico Poison
	Material Calibrador Material Calibrator Calibrator Material		Reagente Reactivo Reagent
	Limite de temperatura (conservar a) Temperatura limite (conservar a) Temperature limitation (store at)		Fabricado por Elaborado por Manufactured by
	Representante Autorizado na Comunidade Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community		Número do lote Denominación de lote Batch code
	Consultar instruções de uso Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use		Controle Control Control
	Número do catálogo Número de catálogo Catalog Number		Controle negativo Control negativo Negative control
	Adições ou alterações significativas Cambios o suplementos significativos Significant additions or changes		Controle positivo Control positivo Positive control
	Produto diagnóstico in vitro Dispositivo de diagnóstico in vitro In vitro diagnostic device		Controle Control Control
	Liofilizado Liofilizado Lyophilized		Corrosivo Corrosivo Corrosive
	Período após abertura Período post-abertura Period after-opening		Uso veterinário Uso veterinário Veterinary use
	Instalar até Instalar hasta Install before		Fabricado em Elaborado en Manufactured on
	Produto de uso único Producto de un solo uso Single use product		

Ref.: 280322 |