

CK-NAC LIQUIFORM VET

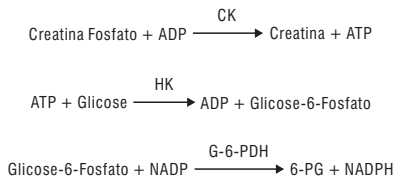
Instruções de Uso

Ref.: 1086

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

[Somente para uso diagnóstico *in vitro*.]

Princípio¹⁻³ . A atividade da creatina quinase total é determinada de acordo com a seguinte sequência 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 absorbância 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 VET é rastreável ao método de referência da IFCC⁵ e ao material de referência ERM®-AD455/IFCC do Institute for Reference Materials and Measurements.

A atividade enzimática da CK no calibrador é rastreável ao Procedimento Primário de Referência da IFCC⁵ e ao material de referência ERM® - AD455/IFCC.

Metodologia . IFCC.

Reagentes

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

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

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

Contém tampão ≤ 20 mmol/L, glicose ≤ 100 mmol/L, creatina fosfato ≤ 150 mmol/L, azida sódica 0,095 % surfactante e estabilizador.

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

Preparação liofilizada contendo tampão ≤ 50 mmol/L, cloreto de sódio ≤ 154 mmol/L, albumina bovina $\leq 3,5$ %, CK-MM e CK-MB 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 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 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.

Material necessário e não fornecido

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

Influências pré-analíticas . Injeções intramusculares podem aumentar a atividade da creatina quinase.

O exercício físico eleva os valores da CK¹⁰. O uso prolongado do torniquete pode produzir resultados falsamente elevados. A punção venosa incorreta pode resultar em atividades mais elevadas da creatina quinase.¹⁰

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. 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 luz⁷.

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

Todas as amostras de sangue devem ser consideradas como potencialmente infectantes e manuseadas conforme 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 absorbância em 405 ou 415 nm acertando o zero com água deionizada ou destilada.

Hemoglobina (mg/dL) \cong Absorbância₄₀₅ x 601

Hemoglobina (mg/dL) \cong Absorbância₄₁₅ x 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 $37 \pm 0,2$ °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.

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

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

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

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:

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

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

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

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

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

Exemplo

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

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

Calibração . Usar o Calibrador Ref. 1086.3. A atividade enzimática da CK no calibrador é rastreável ao material de referência ERM®-AD455/IFCC e ao Procedimento Primário de Referência da IFCC⁵.

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 referência¹¹ . O intervalo deve ser usado apenas como orientação. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência na população atendida.

Espécie	Concentração (U/L)
Canina	1,15-28,4
Felina	7,2-28,2
Bovina	4,8-12,1
Equina	2,4-23,4

Características do desempenho⁹

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 inicial (U/L)	Atividade adicionada (U/L)	Atividade esperada (U/L)	Atividade encontrada (U/L)	Recuperação (%)
328	233	561	560	99,8
1233	233	1466	1456	99,3

O erro sistemático proporcional médio estimado é igual a 0,3 U/L para a concentração de 75 U/L e 1,0 U/L para a concentração de 241 U/L.

Comparação de Métodos . O método proposto foi comparado com produto de química seca disponível comercialmente, para uso exclusivamente veterinário. Foram obtidos os seguintes resultados utilizando amostras de cães:

	Método Comparativo	Método Labtest
Intervalo de concentrações (U/L)	49,0-292,0	44,5-320,5
Média das estimativas (U/L)	112,5	118,5
Equação da regressão	Método Labtest = 1,1371 x Método Comparativo - 9,3628	
Coefficiente de correlação	0,997	

Utilizando a equação da regressão, o erro sistemático total (bias) estimado é igual a 5,02 % para a concentração igual a 50 U/L e 9,96 % para a concentração igual a 250 U/L.

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 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 clínico¹² . A creatinoquinase (CK) é uma enzima presente em altas concentrações nas musculaturas esquelética, cardíaca e lisa, assim como no cérebro, sendo que quantidades menores estão presentes em vários outros órgãos, tais como intestinos, fígado e baço. Ela é encontrada livre no citoplasma de células musculares e são extravasadas dessas células quando elas forem lesadas.

A creatinoquinase é uma enzima considerada músculo-específica. Apesar de a CK estar presente no cérebro, a lesão cerebral não causa aumento da atividade da CK no sangue, mas sim no líquido cefalorraquidiano devido à barreira hematoencefálica.

Após a lesão muscular, o aumento na atividade sérica da CK ocorre rapidamente (com pico de 6 a 12 h), mas também diminui rapidamente (1 ou 2 dias), pois a CK tem meia-vida curta, em torno de 2 h. Dessa maneira, aumentos persistentes na atividade da CK indicam lesão muscular em andamento. Apesar da alta especificidade da atividade da CK para lesões musculares, a sensibilidade é bastante baixa, estando provavelmente relacionada com sua meia-vida curta.

Dentre as principais causas do aumento da atividade sérica de CK podemos citar:

Lesão na musculatura esquelética: As lesões aos músculos esqueléticos são as causas mais comuns para o aumento da atividade de CK, as quais podem resultar de procedimentos tão simples como contenção física ou injeções intramusculares. Isquemia ou necrose muscular, exercícios extenuantes ou convulsões e traumas durante o transporte podem resultar em elevação da atividade sérica de CK.

As causas subjacentes de lesões musculares são numerosas e variadas, incluindo traumas, toxinas, rhabdomiólise por esforço, miopatias inflamatórias devido a infecções bacterianas, virais ou parasitárias e condições hereditárias, como distrofia muscular. Dependendo da causa subjacente, a magnitude desses aumentos pode variar de leve a marcante e correlacionar-se, de alguma maneira, à extensão da lesão.

Lesão na musculatura cardíaca: Aumentos na atividade de CK podem ocorrer devido a lesões no músculo cardíaco. Em cães, isso acontece

devido à elevação das atividades de CK-MM e CK-MB. Pelo fato de o músculo cardíaco apresentar volume relativamente pequeno se comparado ao da musculatura esquelética, é pouco provável que os aumentos na atividade de CK devidos a lesões no músculo cardíaco atinjam a magnitude observada nos casos de lesões graves à musculatura esquelética.

Lesão de musculatura lisa: Em teoria, lesões a tecidos que contenham grande quantidade de musculatura lisa podem causar aumento da atividade sérica de CK, porém, na prática, isso raramente ocorre.

Catabolismo muscular: Pode ocorrer aumento da atividade da CK em gatos anoréxicos, sem doenças que envolvam diretamente os músculos. Especula-se que o catabolismo muscular, com objetivo de suprir aminoácidos para a síntese proteica e gliconeogênese, resulta no extravasamento de CK das células musculares. A atividade de CK nesses gatos diminui rapidamente após o início do suporte nutricional.

Observações

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

2. O laboratório clínico tem como objetivo fornecer resultados exatos e precisos. A utilização de água de qualidade inadequada é uma causa potencial de erros analíticos. A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes, usar nas medições e para uso no enxágue final da vidraria, a água deve ter resistividade ≥ 1 megaohm.cm ou condutividade ≤ 1 microsiemens/cm e concentração de silicatos $< 0,1$ mg/L. Quando a coluna deionizadora está com sua capacidade saturada ocorre liberação de vários íons, silicatos e substâncias com grande poder de oxidação ou redução que 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. Labtest: Dados de Arquivo.
10. Aktas, M. et al. Creatine kinase in the dog: a review. Veterinary Research Communications. 1993; 17 (5): 353-369.
11. Kaneko, JJ; Harvey, John W.; Bruss, Michael L. (Ed.). Clinical biochemistry of domestic animals. Academic press, 2008.
12. Thrall, M A et al.. Hematologia e bioquímica clínica veterinária. Editora Roca, 2015.

Apresentação

Produto	Referência	Conteúdo	
CK-NAC Liquiform VET	1086-2/30	RI1	2 x 24 mL
		RI2	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.

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. Ório e a verificação das instruções do fabricante do instrumento e dos reagentes utilizados, relacionadas com as limitações do procedimento.



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: Janeiro, 2022

Revisão: -

Ref.: 161222(02)




























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 Calibrador Calibrator Material		Tóxico Tóxico Poison
	Material Calibrador Material Calibrador 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 veterinario 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 |