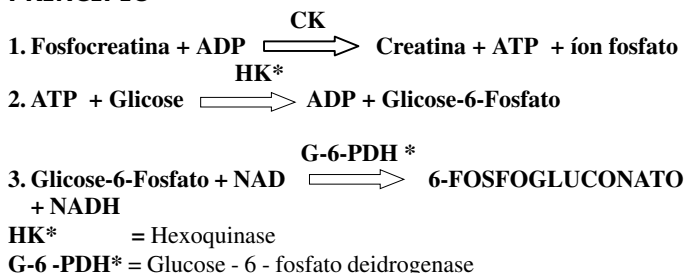


## FINALIDADE

Sistema cinético para determinação da Creatina Quinase (CK) no soro ou plasma.

**Somente para uso diagnóstico in vitro.**

## PRINCÍPIO



A CK cataliza a reação de transfosforilação de ADP a ATP. Uma série de reações enzimáticas acopladas produz NADH em concentração diretamente proporcional à atividade enzimática de CK na amostra.

O aumento de absorvância de NADH por minuto em 340nm é diretamente proporcional à concentração de CK no soro.

## METODOLOGIA

Cinético, ultravioleta.

## REAGENTES E APRESENTAÇÃO

**CK Reagente.** Após sua reconstituição, o reagente tem as seguintes concentrações: ADP 20mmol/L, AMP 5mmol/L, Diadenosina Pentafosfato 10mmol/L, NAD 2mmol/L, HK 3 x 10<sup>3</sup> nkat/L, G6P-DH 3 x 10<sup>3</sup> nkat/L, N-Acetil Cisteína 20mmol/L, Creatina Fosfato 30mmol/L, Glicose 20mmol/L, Acetato de Magnésio 10mmol/L, EDTA 2mmol/L em tampão Imidazol 100mmol/L.

## Apresentação

10 x 6,5mL CK Reagente

## NÚMERO DE TESTES

Manual - 65 testes

Automação - 260 testes

## EQUIPAMENTOS E MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro com banda espectral mínima de 8nm, que realize leituras em 340nm e cuja cubeta seja termostatizável em 30 ou 37°C.
- Tubos de ensaio.
- Pipetas graduadas.
- Pipetas semi-automáticas de 20µL.
- Ponteiras descartáveis.
- Água deionizada ou destilada.

## ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

**CK Reagente:** armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, se obedecidas as condições de armazenamento. Após a reconstituição permanece estável por 14 dias, quando conservado entre 2-8°C.

## CUIDADOS E PRECAUÇÕES COM O USO DOS REAGENTES

O CK Reagente é somente para **uso diagnóstico in vitro**. Seu manuseio deve ser cuidadoso, evitando-se contato com pele e mucosas. Em caso de contaminação acidental, lavar a parte afetada em água corrente. O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se aos critérios de biossegurança estabelecidos pelo laboratório, de acordo com as normas locais, estaduais ou federais.

Observar ainda a simbologia constante nos rótulos do produto:



Irritante

## AMOSTRA

Soro ou plasma heparinizado. Demais anticoagulantes inibem a atividade da enzima.

A enzima permanece estável por 24 horas, à temperatura de 20°C; 7 dias, à temperatura de 2-8°C e 1 mês, à temperatura de 20°C negativos.

**Todas as amostras biológicas devem ser consideradas como potencialmente infectantes.**

## PROCEDIMENTO TÉCNICO

### • Reconstituição do CK-Reagente

Reconstituir o conteúdo dos frascos pela adição de 6,5mL de água a cada frasco de CK-NAC.

### • Realização do teste

1. Para cada amostra, adicionar 1mL do CK Reagente reconstituído em tubo de ensaio.
2. Adicionar 20µL de amostra a 1mL do CK Reagente preparado.
3. Homogeneizar e transferir para cubeta termostatizada a 30°C/37°C.
4. Esperar 2 minutos.
5. Fazer a leitura inicial em absorvância, anotando o achado.
6. Repetir as leituras em intervalos de 1, 2 e 3 minutos.
7. Calcular a média das diferenças de absorvâncias por minuto (ΔA/minuto), utilizando-a para calcular o resultado.
8. Se a reação enzimática processou-se à temperatura de 37°C, o resultado pode ser expresso à temperatura de 30°C, multiplicando-se o resultado achado a 37°C pelo fator 0,58.

## DEFINIÇÃO DE UNIDADE

Uma unidade internacional (U.I.) de **CK** é a quantidade de enzima que oxida um µmol/L de NADH por minuto.

O coeficiente de extinção micromolar de NADH, em 340nm é 6,3.

São utilizados 20µL de soro e 1000µL do reagente, perfazendo um volume final de 1.020µL.

1000 fator / transformação de mililitro em litro.

**O fator 8095 é calculado como segue:**

$$\text{CK (U.I./L)} = \frac{\Delta A}{\text{min}} \times \frac{1}{6,3} \times \frac{1020}{20} \times 1.000 = \Delta A \times 8.095$$

## CÁLCULOS

$$\text{CK U.I./L} = \Delta A/\text{minuto} \times 8095$$

Exemplo:

$$1^{\text{a}} \text{ leitura (após 2 minutos de incubação)} = 0.381$$

$$2^{\text{a}} \text{ leitura} = 0.396 \quad \Delta A = 0.396 - 0.381 = 0.015 \text{ (1}^{\circ} \text{ minuto)}$$

$$3^{\text{a}} \text{ leitura} = 0.412 \quad \Delta A = 0.412 - 0.396 = 0.016 \text{ (2}^{\circ} \text{ minuto)}$$

$$4^{\text{a}} \text{ leitura} = 0.426 \quad \Delta A = 0.426 - 0.412 = 0.014 \text{ (3}^{\circ} \text{ minuto)}$$

$$\Delta A/\text{minuto} = \frac{\Delta A \text{ 1}^{\circ} \text{ minuto} + \Delta A \text{ 2}^{\circ} \text{ minuto} + \Delta A \text{ 3}^{\circ} \text{ minuto}}{3}$$

$$\Delta A/\text{minuto} = \frac{0.015 + 0.016 + 0.014}{3} = 0.015$$

$$\text{CK U.I./L} = 0.015 \times 8095 = 121,4$$

## LINEARIDADE

A reação é linear até a concentração de 1.700U.I./L. Para valores mais elevados, diluir a amostra com água destilada ou deionizada e proceder-se à nova dosagem. Multiplicar o valor encontrado pelo fator de diluição.

## LIMITAÇÕES DO SISTEMA

- Para se obter ótimo desempenho do sistema, é necessário que o procedimento técnico seja rigorosamente seguido conforme instruções de uso. Qualquer alteração no procedimento técnico poderá levar a resultados errôneos.
- A presente metodologia quantifica CK-NAC, não sendo específica para dosagem de isoenzima. Para dosagem de CK-MB, utilizar o kit de CK-MB Doles.

- O reagente em pó tem aspecto branco e homogêneo. Se a absorvância do reagente preparado, sem adição de amostra, for superior a 0,700 em 340nm, o reagente está deteriorado. Desprezar o mesmo e preparar um novo reagente.

### CONTROLE DA QUALIDADE DO SISTEMA

- A limpeza e a secagem adequada do material a ser utilizado são de fundamental importância para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
- A água utilizada na limpeza do material, preparo dos reagentes e dosagem, deve ser de boa qualidade.
- Colunas deionizadoras saturadas liberam íons diversos, aminas e agentes oxidantes, que deterioram os reagentes.
- As pipetagens devem ser precisas.
- O uso de soro controle de referência deve ser uma prática rotineira do laboratório. Recomenda-se utilizar um soro controle com valor na faixa de normalidade (**soro controle N - Doles**) e outro soro controle de valor elevado (**soro controle P - Doles**).

### VALORES DE REFERÊNCIA

É recomendado que cada laboratório estabeleça sua própria faixa de valores de referência na população atendida. Como orientação, sugerimos os seguintes valores:  
Homens: 15 - 110U.I./L (30°C) /26 - 190U.I./L (37°C)  
Mulheres: 15 - 90 U.I./L(30°C) /26 - 155U.I./L (37°C)

### SIGNIFICADO CLÍNICO

A **CK** é um dímero composto de duas subunidades: **M** (músculo-músculo) e **B** (brain-cérebro). A composição dessas duas subunidades resulta em três isoenzimas: **MM**, **MB** e **BB** que se distribuem conforme tabela abaixo. **CK-NAC Doles** quantifica a soma das três isoenzimas, dosando portanto a CK total.

Níveis elevados de **CK** são encontrados em infarto agudo do miocárdio. A elevação já é constatada 6 horas após o início do quadro e atinge o ápice em torno de 24 horas, permanecendo os valores elevados por 72 a 96 horas.

Valores elevados são encontrados na distrofia muscular progressiva (tipo Duchene).

Níveis elevados de **CK** tem sido encontrados em pacientes portadores de hipotireoidismo e nos politraumatizados.

A determinação da isoenzima **CK-MB** em pacientes com suspeita de infarto do miocárdio confere especificidade ao diagnóstico.

Tecido	Atividade CK (U/gtecidoúmido)	MM(%)	MB(%)	BB(%)
Músculo esquelético	2590	99	1	1
Músculo cardíaco	380	77	22	1
Cérebro	157	0	0	100
Intestino	137	4	2	95
Tireóide	32	15	1	85
Próstata	9	4	3	93

### CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Foram realizados 40 testes em amostras cujo teor de CK situava-se entre os intervalos de 13U.I./L e 932 U.I./L. A comparação do kit de CK-NAC Doles (Y) com a metodologia de referência (X), deu origem à seguinte equação de regressão linear:  $Y = 0,996X - 0,739$  sendo o coeficiente de correlação 0,99.

### Repetitividade:

Foram realizadas 20 dosagens sucessivas, em 2 amostras, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2
Concentração (U.I./L)	24,0	202,5
Desvio padrão	1,0	7,4
Coeficiente de variação (%)	4,2	3,7

### Reprodutibilidade:

Foram realizadas 20 dosagens durante 20 dias consecutivos, Em dois soros, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2
Concentração (U.I./L)	47,5	182,5
Desvio padrão	1,9	6,8
Coeficiente de variação (%)	4,0	3,7

**Especificidade:** a presente metodologia é específica para determinação da CK, quando a mesma é dosada em condições ideais de conservação da amostra e de procedimento técnico.

**Sensibilidade:** a absorvância  $\Delta A/\text{minuto}$  de 0,001 corresponde a 8,1 U.I./L de creatina fosfotransferase (CPK), quando medida em espectrofotômetro em 340nm e cubeta com 1cm de passagem de luz. A sensibilidade do sistema está estritamente relacionada com a sensibilidade do aparelho utilizado no laboratório.

**Diluição da matriz:** estudos sucessivos de diluição da matriz mostram aumento dos valores de CK total entre 20 e 60%, em relação ao valor inicial. Admite-se que no soro existam elementos inibidores da atividade da CK e que deixam de atuar com a diluição do mesmo.

### Substâncias interferentes:

- Amostras colhidas com anticoagulantes não devem ser utilizadas pois inibem a atividade enzimática. Ao usar plasma, o anticoagulante utilizado deve ser a heparina.
- Amostras com discreto grau de hemólise podem ser utilizadas. Soros fortemente hemolizados podem apresentar resultados falsamente elevados devido à liberação de enzimas intra-eritrocitários que podem interferir na reação.

### BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- Kaplan, L.A, Pesce, A.J.: *Clinical Chemistry*, 3ªed, 603-605, 1996.
- Henry, J.B., *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 284-285, 19ª edição, 1996.
- The Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1979, 39:1
- Tibúrcio, H.M.: *Controle interno da qualidade analítica*, 1ªed. março/1995.
- Doles: dados de arquivo.

### TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

As garantias do fabricante ao consumidor seguem estritamente as relacionadas na Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1.990 - **Código de Defesa do Consumidor**.

Todos os reagentes que compõem este sistema para diagnóstico são garantidos na sua performance, reprodutibilidade e qualidade até a data de vencimento dos mesmos, se obedecidas as condições abaixo:

- O usuário do sistema seguir, rigorosamente, o procedimento técnico.
- Armazenamento de acordo com o estabelecido nas instruções de uso.
- Materiais necessários e não fornecidos em boas condições técnicas.

**Todos os produtos que apresentarem problemas técnicos comprovados serão substituídos, sem ônus para o consumidor.**

Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda.  
CNPJ: 01.085.513/0001-05  
Rodovia BR 153, Km 1273, Lt.07, Chácara Retiro  
CEP: 74001-970 Goiânia - GO - Brasil  
Caixa Postal 1051  
e-mail: doles@doles.com.br  
www.doles.com.br

M.S.: nº 10231810072

Revisão: 12 (05/2007)

**NBR ISO 9001:2000**

**Sistema da Qualidade certificado desde 1999**