



# CK-NAC

unitest y AA

Método UV otimizado (IFCC) para a determinação de Creatina Quinase (CK) em soro ou plasma

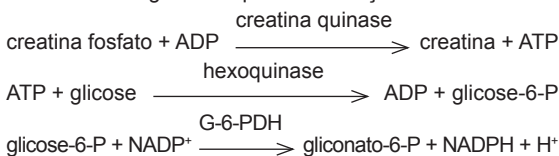
## SIGNIFICADO CLÍNICO

A creatina quinase (CK) é uma enzima intracelular, localizada em maior proporção no músculo esquelético, no músculo cardíaco e no cérebro. Um aumento na atividade sérica, é portanto, índice de lesão celular.

No caso do enfarte agudo de miocárdio (EAM), a atividade sérica de CK começa a aumentar entre 2 e 6 horas, após ter sido produzido o episódio, alcançando um valor máximo após 18 a 24 horas. Os picos alcançados podem chegar a ser 20 vezes o limite superior normal, razão pela qual seja talvez, a prova mais sensível para o diagnóstico de EAM.

## FUNDAMENTOS DO MÉTODO

Baseado no seguinte esquema de reações:



No esquema de reações intervêm a N-acetilcisteína (NAC) como ativador da creatina quinase, recomendado pela I.F.C.C.

## REAGENTES FORNECIDOS

**B. Reagente B:** solução de tampão imidazol pH 6,7.

**A. Reagente A:** frasco com substrato dessecado, com quantidades suficientes para obter as seguintes concentrações finais:

imidazol .....	100 mmol/l; pH 6,7
creatina fosfato .....	30 mmol/l
ADP .....	2 mmol/l
glicose .....	20 mmol/l
NADP .....	2 mmol/l
hexoquinase .....	≥ 2500 U/l
glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PDH) .....	≥ 2000 U/l
acetato de magnésio .....	10 mmol/l
AMP .....	5 mmol/l
di-(adenosina-5') penta-fosfato .....	10 umol/l
N-acetilcisteína (NAC) .....	20 mmol/l

## INSTRUÇÕES PARA USO

**Reagente B:** pronto para uso.

**Reagente A:** reconstituir da maneira apresentada abaixo:

- CK-NAC UV AA: dissolver cada frasco de Reagente A com 20 ml de Reagente B. Datar.
- CK-NAC UV unitest: dissolver cada frasco de Reagente A com 2,5 ml de Reagente B. Datar.

## PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

## ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

**Reagentes Fornecidos:** estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem.

**Reagente A reconstituído:** é estável po 20 dias sob refrigeração (2-10°C) ou por 3 dias sob temperatura ambiente a partir do momento de sua reconstituição.

## INDÍCIOS DE INSTABILIDADE OU DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES

Assim que o espectrofotômetro for zerado com água destilada e as leituras de absorvância do Reagente A reconstituído forem superiores a 0,800 D.O. (a 340 nm) são indicio de deterioração do mesmo.

## AMOSTRA

Soro ou plasma

**a) Coleta:** deve-se obter da maneira habitual.

**b) Aditivos:** no caso de empregar plasma, deve-se utilizar heparina (concentração < 15 U/ml) ou EDTA como anticoagulante.

**c) Substâncias interferentes conhecidas:** não se observam interferências por bilirrubina até 90 mg/l, triglicerídeos até 13 g/l, nem heparina até 50 U/l. A hemólise visível (concentração de hemoglobina > 0,08 g/dl) produz interferência. Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

**d) Estabilidade e instruções de armazenamento:** a amostra deve ser preferencialmente fresca. Pode ser conservada até uma semana sob refrigeração (2-10°C) sem acréscimo de conservantes.

## MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro.
- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.
- Banho-maria à temperatura indicada no PROCEDIMENTO a seguir.
- Cronômetro.

## CONDIÇÕES DE REAÇÃO (Aumento de absorvância)

- Comprimento de onda: 340 nm (Hg 334 ou 366)
- Temperatura da reação: 25, 30 ou 37°C. Vide VALORES DE REFERÊNCIA correspondentes a cada temperatura.
- Tempo de reação: varia segundo o procedimento selecionado.

### PROCEDIMENTO

Zerar o aparelho com água destilada.

#### A) 30 - 37°C

##### I- MACROTÉCNICA

Em uma cubeta mantida, a 30-37°C colocar:

<b>Reagente A reconstituído</b>	2,5 ml
---------------------------------	--------

Preincubar 3-4 minutos, e depois adicionar:

<b>Amostra</b>	50 ul
----------------	-------

Misturar imediatamente e esperar 3 minutos. Ajustar a Absorbância a um valor de referência e disparar simultaneamente o cronômetro. Registrar a absorbância depois de 1-2 e 3 minutos da primeira leitura.

Determinar a diferença média de absorbância/min ( $\Delta A/\text{min}$ ), subtraindo a cada leitura a anterior e tirando a média destes valores. Utilizar esta média para os cálculos.

##### II- MICROTÉCNICA

Em uma cubeta mantida a 30-37°C, colocar:

<b>Reagente A reconstituído</b>	1 ml
---------------------------------	------

Preincubar 3-4 minutos, e depois adicionar:

<b>Amostra</b>	20 ul
----------------	-------

Misturar imediatamente e esperar 3 minutos. Continuar de modo similar ao descrito no procedimento anterior (A-I).

#### B) 25°C

##### I- MACROTÉCNICA

Como a atividade a esta temperatura é menor, devem ser empregados 100 ul de Amostra para obter a sensibilidade adequada. Registrar as leituras a partir dos 4 minutos de adicionada a Amostra. Seguir o procedimento indicado em A-I.

##### II- MICROTÉCNICA

Seguir o procedimento indicado em A-II empregando 50 ul de Amostra.

### CÁLCULO DOS RESULTADOS

$CK \text{ U/l} = \Delta A/\text{min} \times \text{fator}$

Em cada caso deve ser empregado o fator de cálculo correspondente como é indicado na seguinte tabela de fatores:

Long. onda	30-37°C		25°C	
	I o II	I	II	
340 nm	8.095	4.127	3.333	
334 nm	8.252	4.207	3.398	
366 nm	15.000	7.647	6.176	

### MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Standatrol S-E 2 níveis**) com atividades conhecidas de creatina quinase, com cada determinação.

### VALORES DE REFERÊNCIA

Temperatura	25°C	30°C	37°C*
Homens	até 80 U/l	até 130 U/l	até 195 U/l
Mulheres	até 70 U/l	até 110 U/l	até 170 U/l

\* Calculados

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

### CONVERSÃO DE UNIDADES AO SISTEMA SI

$\text{Creatina quinase (U/l)} \times 0,017 = \text{Creatina qinase (ukat/l)}$

### LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA.

### DESEMPENHO

**a) Reprodutibilidade:** processando simultaneamente duplicatas das mesmas amostras no mesmo dia, foram obtidos os seguintes dados:

Nível	D.P.	C.V.
144,5 U/l	$\pm 3,36 \text{ U/l}$	2,33 %
450,4 U/l	$\pm 5,98 \text{ U/l}$	1,33 %

Processando a mesma amostra em diferentes dias, obteve-se:

Nível	D.S.	C.V.
147,5 U/l	$\pm 3,13 \text{ U/l}$	2,12 %
451,2 U/l	$\pm 6,89 \text{ U/l}$	1,53 %

**b) Sensibilidade:** depende do fotômetro empregado e da comprimento de onda. Em espectrofotômetros com cubetas de faces paralelas de 1 cm de espessura, para um  $\Delta A/\text{min}$  de 0,001 a mudança mínima de atividade detectável será de 8 U/l (a 340 nm e 30°C ou 37°C).

**c) Faixa dinâmica:** a faixa útil de leitura estende-se até 0,250 D.O. (340 nm) ou 0,140 D.O. (366 nm).

Para valores superiores deve-se utilizar amostra diluída com solução fisiológica corrigindo posteriormente os resultados.

### PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Para a programação consultar o manual de uso do analisador a ser utilizado.

### APRESENTAÇÃO

#### CK-NAC UV AA:

- 3 x 20 ml (60 ml Reagente B) (Cód. 1271303).
- 3 x 20 ml (3 x 20 ml Reagente B) (Cód. 1009309).
- 10 x 20 ml (200 ml Reagente B) (Cód. 1271353).

#### CK-NAC UV unitest:

- 20 x 2,5 ml (Cód. 1271351).


### REFERÊNCIA

- D.G.K.C. - Z. Klin. Chem. 10:281 (1972).
- S.S.C.C. - Scand. J. Clin. Lab. Invest. 33:291 (1974).

- I.F.C.C. - Clinica Chimica Acta 105:147 F (1980).
- I.F.C.C. - Ann. Biol. Clin. 44/4:419 (1986).
- Stein, W. - Med. Welt. 36:572 (1985).
- Szasz, G.; Busch, E.W. - 3<sup>rd</sup> European Congress of Clinical Chemistry, Brighton, England, 3-8 June, 1979.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4<sup>th</sup> ed., 2001.
- NCCLS document "Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods", EP6-P (1986).

## SÍMBOLOS

Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab.


 Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"


 Representante autorizado na Comunidade Europeia

 Uso médico-diagnóstico "in vitro"

 Conteúdo suficiente para <n> testes


 Data de validade

 Limite de temperatura (conservar a)

 Não congelar

 Risco biológico

 Volume após da reconstituição

 Conteúdo


 Número de lote

 Elaborado por:

 Nocivo

 Corrosivo / Caústico

 Irritante

 Consultar as instruções de uso

 Calibrador

 Controle

 Controle Positivo

 Controle Negativo

 Número de catálogo

 **Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina

UR120419