



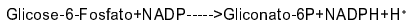
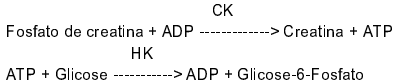
QUIMINAC - CKNAC Método UV

Finalidade:

Reação enzimática para determinação quantitativa de Creatina Quinase em amostras de soro e plasma humanos. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

Princípio:

A Creatina Quinase (CK) catalisa a fosforilação do ADP (adenosina difosfato) pelo fosfato de creatina, obtendo-se creatina e ATP (adenosina trifosfato). A concentração catalítica se determina, empregando as reações de hexoquinase (HK) e glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PDH), a partir da velocidade de formação do NADPH, medido a 340 nm. Temos então a seguinte reação:



Metodologia:

IFCC

Significado Clínico:

No infarto do miocárdio, a CPK começa a elevar-se de 4 a 6 horas após o início do episódio agudo, alcança seu máximo em geral após 36 horas e volta a normalidade em dois a quatro dias. O que torna esta enzima extremamente útil no diagnóstico do infarto é a precocidade de sua elevação.

A atividade também se encontra elevada em todos os tipos de distrofia muscular, observando-se os mais elevados teores do tipo Duchenne, no qual podem encontrar-se níveis até 50 vezes maiores do que o limite superior normal. Os títulos são mais elevados em lactantes e crianças, diminuindo com a idade. Cerca de 80% das mulheres assintomáticas portadoras mostram elevação moderada dos valores de CPK no soro.

Uma injeção intramuscular (de qualquer medicamento) pode ocasionar liberação de CPK muscular para o plasma e aumento de seu teor sérico. Daí a necessidade de identificação das isoenzimas de CPK, de modo a afastar a possibilidade de superposição de CPK de origem muscular e CPK cardíaca.

Exercícios extenuantes ou atividade física podem produzir elevados níveis de CPK no soro.

Reagentes:

Reagente 1: Pronto para uso. Conservar entre 2 - 8 °C. Contém: Imidazole- 100mM

Reagente 2: Pronto para uso. Conservar entre 2 - 8 °C. Contém: Fosfato de creatina- 30 mM, ADP- 2 mM, AMP- 5mM, NADP- 2 mM, N - Acetilcisteína- 20 mM, hexoquinase- 2500 U/L, G-6-PDH - 1500 U/L, Glicose- 20 mM, acetato de magnésio 10 mM e EDTA Na2- 2 mM, di adenosina-5 pentaosfato 10 µM.

Os reagentes não abertos são estáveis até a data de vencimento impressa no rótulo do produto, e e on board (em um compartimento refrigerado do analisador) possuem estabilidade de aproximadamente 30 dias. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminação de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

REAGENTE DE TRABALHO

Para alguns analisadores é necessário preparar o Reagente de Trabalho (verifique o protocolo do analisador): Preparar 4 partes do reagente 1 para 1 parte do reagente 2. Ex.: 4mL de R1 + 1mL de R2. O reagente após o preparo é estável até 15 dias quando armazenado a 2 - 8°C ao abrigo da luz.

Precauções e Cuidados Requeridos:

Este reagente deve ser usado somente para diagnóstico "in vitro". Não pipetar com a boca. Evitar contato com a pele e roupa. No caso de contato com os olhos, lavar com grande quantidade de água e procurar auxílio médico.

Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos.

Não usar se a absorvância do branco ultrapassar 0,300 quando medido em 340 nm (cuveta de 1cm), ou se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco.

Material Necessário não Fornecido:

1. Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorvância de 340 nm.
2. Pipetas para medição de amostras e reagente.
3. Água destilada/deionizada.
4. Consumíveis do analisador quando usado.
5. Soros Controle e Calibrador
6. Medidor de tempo.

Amostra:

Soro ou plasma (colhido com heparina ou EDTA). O CPK no soro é estável por 7 dias se mantido entre 2 - 8°C. A amostra poderá ser congelada (-20°C) por um mês quando vedada.

Todas as amostras e controles são considerados potencialmente infectantes, portanto sugerimos manuseá-las seguindo as normas estabelecidas de Biossegurança.

Preparo do Paciente:

É recomendado um jejum de 4 horas. Todavia, poderá ser modificado segundo orientação médica. Exercícios pesados ou atividades físicas podem produzir níveis elevados de CK no soro.

Interferências:

Bilirrubina até 20 mg/dL e hemoglobina até 10 g/L não interferem significativamente no resultado. Lipemia (triglicérides) > 5 g/L interfere no resultado

Algumas drogas e substâncias afetam a concentração do CPK, sugerimos consultar Young et al.

Parâmetros do Sistema:

Temperatura: 37°C
Comprimento de Onda: 340 nm.
Tipo de Reação: Cinética
Direção: Crescente
Relação Amostra/Reativo: 1:25
Vol. Amostra: 40 µL
Vol. Reagente: 1,0 mL (800µL R1 + 200µL R2)
Tempo de Incubação: 3 minutos (retardo)
Intervalo de leitura: 1 minuto
Número de Intervalos: 2 - 3

Calibração:

Utilizar Quimicalib Ebram cód.7023/12023 que possui a concentração rastreável ao método de referência proposto pelo CLSI, ou realizar a calibração através de faturação, obtida através da absorção média milimolar do NADH a 340 nm (6.30) sob condições específicas.

Procedimento Automatizado:

Aplicação no sistema automatizado: vide manual para utilização do equipamento e instruções de uso do reagente.

Aplicação no sistema semi-automático: proceder como demonstrado a seguir no procedimento manual somente até o item 2 (preparação dos tubos), em seguida utilizar o equipamento para leitura, seguindo o protocolo analítico específico baseado no item Parâmetros do Sistema.

Nota: Adicionar as amostras no tubo somente no momento que antecede a aspiração do equipamento.

Procedimento Manual:

1. Preparar o Reagente de Trabalho: Misturar os reagentes na proporção: 1 parte do Reagente 2 + 4 partes do Reagente 1 (4mL R1 + 1mL R2).
2. Separar 3 tubos de ensaio e realizar os procedimentos conforme abaixo:

	Branco	Calib.	Amostra/S.C.
Água destilada	40µL	-	-
Calibrador	-	40µL	-
Amostra/S.C.	-	-	40µL
Reagente de trabalho	1,0mL	1,0 mL	1,0 mL

3. Adicionar 1,0 mL do reagente de trabalho em dois tubo e deixe em banho - maria (BM) a 37°C O nível de água no BM deve ser superior ao nível de reagentes nos tubos de ensaio.

4. Adicionar 40µL do calibrador e 40µL de água destilada em cada tubo.

5. Aguardar de 3 minutos

6. Zerar o espectrofotômetro a 340nm com o tubo do branco.

7. Inserir no equipamento o tubo com o calibrador e registrar as absorvâncias A1, A2, A3, considerando A1 a primeira leitura (logo após os 3 minutos de retardo) e as seguintes com 1 minutos de intervalo.

8. Determinar as duas diferenças de absorvância/min (Δ Abs/min), subtraindo cada leitura de sua anterior.

9. Determinar a média das diferenças de absorvância (Δ Abs/min). Proceder em seguida do mesmo modo com os controles e todas as amostras.

Obs.: Procedimento sugerido para espectrofotômetros que requerem volume mínimo de 1,0 mL e podem ser ajustados proporcionalmente sem influência no desempenho do teste. Salientamos que volumes de amostra menores do que 10 µL aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

Cálculos:

(Abs. = Absorvância)
(Conc. = Concentração)
 $\Delta \text{ Abs. /min} = (A2 - A1) + (A3 - A2) / 2$

$\text{CKNAC da Amostra (U/L)} = \frac{\Delta \text{ Abs. /min (amostra)}}{\Delta \text{ Abs. /min (Calib)}} \times \text{Conc. Do Calib (U/L)}$

Exemplo:

Absorvância com o Calibrador
A1 = 0,028 / A2 = 0,060 / A3 = 0,104
Média = (0,060 - 0,028) + (0,104 - 0,060)
Δ Abs/min -----

Média Δ Abs/min (calib) = 0,038
Média Δ Abs/min (amostra) = 0,034 (calc. I dem acima)
Concentração do Calibrador = 347 U/L

CKNAC Amostra = (0,034 / 0,038) 347

CK-NAC Amostra= 310 U/L

Obs: nkat/L= U/L x 16,67

Linearidade:

Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 1300 U/L. Amostras com valores superiores a 1300 U/L devem ser diluídas com solução salina a ponto de ficarem entre 9.2 - 1300 U/L e os resultados devem ser multiplicados pelo fator de diluição.

Controle de Qualidade:

Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância ações corretivas. Deve-se manter também um sistema definido para se monitorar a variação analítica do sistema de medição. Aconselhamos o uso dos soros controle Quimicontrol Normal e Quimicontrol Anormal Ebram Cód. 7024/12024 e 7031/12031.

Valores Esperados:

Os seguintes valores são baseados nas medições desempenhadas a 37°C.

Masculinos: 38 a 174 U/L

Femininos: 26 a 140 U/L

Recém nascidos: 2 a 3 vezes os valores dos adultos.

Estes valores são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

Estudos Comparativos:

Estudos executados entre este procedimento e uma metodologia similar produziram os seguintes resultados:

Número de Amostras:	48
Intervalo dos resultados	15 - 501 (U/L)
Coefficiente de Correlação:	0.993
Inclinação:	1.0027
Intercepta:	0.8 (U/L)

Precisão:

Estudos de precisão foram executados com três níveis (baixo, normal e patológico) sendo que cada amostra fora processada por 40 vezes e os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=40	Nível 1	Nível 2	Nível 3
Média (U/L)	101,0	564,1	960,6
D.P. (U/L)	1,0	1,8	2,4
C.V. (%)	1,1	0,3	0,2

Exatidão:

As amostras foram processadas por 10 dias consecutivos, uma vez por dia e em quadruplicata. Os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=40	Nível 1	Nível 2	Nível 3
Média (U/L)	101,0	564,1	960,6
D.P. (U/L)	1,8	9,2	18,9
C.V. (%)	1,7	1,6	2,0

Sensibilidade Metodológica:

9,2 U/L

Especificidade:

Como as amostras foram selecionadas aleatoriamente em pacientes de ambulatório e hospitalizados, pode-se inferir que o método tem uma especificidade metodológica adequada.

Observações:

1. A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para 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 mega ohm ou condutividade ≤ 1 microsiemens e concentração de silicatos < 0,1 mg/L (água tipo II). Para o enxágue da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade ≥ 0,1 megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágue final utilizar água tipo II.

Apresentação:

Linha Bioquímica Geral: R1= 4 x 10mL + R2= 2 x 5mL

Linha Hitachi 917 / Advia: R1= 1 x 60mL + R2= 1 x 17mL

Linha Quimisa: R1= 2 x 36mL + R2= 1 x 18mL

Linha Bulk: R1= 1 x 200mL + R2= 1 x 50mL

Para mais informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM - tel. (011) 2291-2811, sac@ebram.com ou www.ebram.com

Referência Bibliográfica:

1. Szasz, G. et al. Clin. Chem., 22, 650 (1976)
2. McComb, R.B. et al. Clin. Chem. 22:141 (1976)
3. The Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology, Scand. J. Clin. Lab. Invest. 39:1 (1979)
4. Tietz, N.W. Fundamentals of Clinical Chemistry. Philadelphia, W.B. Saunders Co. pp. 682:689 (1982)
5. Kaplan, L.A. and Pesce, A.J. Clinical Chemistry: Theory, analysis and correlation. St. Louis, C.V. Mosby Co., p. 921 (1989)
6. Miller, O., Gonçalves, R.R. Laboratório para o Clínico, 8 ed., Atheneu, (1998).
7. Young, D.S. Effects of drug on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.



APLICAÇÃO PARA COBAS MIRA

GENERAL			
Measurement Mode:	ABSORB		
Reaction Mode:	R-S-SR1		
Calibration Mode:	Calibr/Slope AVG		
Reagent Blank:	REAG/DIL		
Cleaner:	BEFORE		
Wavelength:	340 nm		
Decimal Position:	0		
Unit:	U/L		
ANALYSIS			
Dilution Name:	STD		
Factor:	Main STD		
Time:	Sample Dil Name: H2O		
Post Dil Factor: 2.00	Conc. Factor: NO		
Sample:	Cycle: 2		
Volume:	Dil: 20 ul		
Reagent:	Cycle: 1		
Volume:	160 ul		
Start Reagent 1:	Cycle: 1		
Volume:	Dil: 10 ul		
Start Reagent 2:	Cycle:		
Volume:	Dil:		
CALCULATION			
Sample Limit:	0.5000		
Point:	T2		
Reaction Direction:	INCREASE		
Check:	ON		
Conversion Factor:	1.0000		
Offset:	0.0000		
Test Range Low:	0		
High:	1300		
Norm Range Low:	24		
High:	195		
Number of Slats:	1		
Calculation Step A:	KINSEARCH		
Readings First:	9		
Last:	15		
Reaction Limit:	0.5000		
Point:	T2		
Calib Interval:	ON REQUEST		
CALIBRATION			
Reagent Blank:			
Reagent Range:			
Reagent Range Low: 0.0000	Blank Range Low: -0.0050		
High: 1.5000	High: 0.0050		
Factor:			
Calibrator Pos:	(*)		
STD1:	(**)	STD2:	
STD3:		STD4:	
STD5:		STD6:	
STD7:		STD8:	
Calc Model:			
Correction STD:			
Replicate:	Duplicate		
Deviation:	5%		
CONTROL			
CS1 - Pos(*) Assain(**) Low(**)			
CS2 - Pos(*) Assain(**) Low(**)			
CS3 - Pos(*) Assain(**) Low(**)			

(*) colocar a posição correspondente do controle do Rack CAL/CS
 (**) colocar o valor correspondente do calibrador
 (***) colocar o valor correspondente do soro controle

Utilizar o produto na forma Bireagente

APLICAÇÃO PARA EXPRESS 550

Test Name: CKNAC	Test: CK			
Test Bar Code:				
Test Type: Kinetic	Curve Type: Enzyme Linear			
Units: U/L	Nº of Decimal Places: 0			
Primary Wavelength: 340	Secondary Wavelength: 380			
Read Time Interval: 60	Sample Blank: NO			
Factor:				
Calibration Interval: (*)				
Normalization Interval: (*)				
Nº of Calibrators: 2	Nº of Replicates: 2			
Low Blank A Limit: 0.000	High Blank A Limit: 0.850			
Low A Limit: 0.000	High A Limit: 1.800			
Low Normal: 24	High Normal: 195			
Linearity Limit: 1300	Curve S.D. Limit: 5.000			
Test Name: CKNAC	Test: CK			
Test Bar Code:				
Sample Volume: 13 ul	Sample Diluent:			
Reagent Dilution Ratio: 2	Predilution Ratio: 1			
Reagent Dilution:				
Reagent 1	Reagent Volume	Bar Code	Diluent Volume	Lag Time
Reagent 2	280	ZB2A	-	120
Reagent 3				
Reagent 4				
Controls:				

Preparar reagente de trabalho (4 partes do R1 para 1 parte do R2)
 (*) Introduzido pelo operador (1 - 999)

Ebram Prods.Laboratoriais Ltda.
 Rua Júlio de Castilhos, nº 500 - Belenzinho
 São Paulo - SP - Cep: 03059-001
 Tel.: (11) 2291-2811
 Indústria Brasileira
 CNPJ.: 50.657.402/0001-31
 www.ebram.com
 sac@ebram.com
 SAC.: (11) 2291-2811
 Resp.Téc.: Nadjara Novaes Longen
 CRF-SP - 37.451
 Nº do Reg. MS: 10159820161
 Edição: Abr/2018

APLICAÇÃO PARA SELECTRA

Name:	CPK
Abbr Name:	CPK
Mode:	Kinetic
Wavelength:	340nm
Units:	U/L
Decimals:	0
Low Conc:	1.900 U/L
High Conc:	1300 U/L
Calibrator Name:	(*)
Renact:	2
Number:	1
Concentration:	(**)
Interval:	(*)
Cut off:	NO
Prozone Check:	NO
Ref Male Low:	24
Ref Male High:	195
Ref Female Low:	24
Ref Female High:	170
Ref Pad Low:	(*)
Ref Pad High:	(*)
Control 1:	(*)
Control 2:	(*)
Control 3:	(*)
Comelat Factor:	1.00
Comelat Offset:	0.000
DUAL MODE	
Name:	CPK
Sample Blank:	NO
R1 Bottle:	25 ml
Normal Volume:	240 ul
Re-run Volume:	249 ul
SAMPLE	
Normal Volume:	12 ul
Re-run Volume:	3 ul
R2 Bottle:	5 ml
Normal Volume:	0 ul
Re-run Volume:	0 ul
Predilution:	NO
Slope Blank:	NO
Delay Min Time:	130, 289
Linearity Limit:	10.0%
Point One, Two:	
Incubation Time:	
Low Absorbance:	-0.100
High Absorbance:	3.000
R ABS L Limit:	-0.100
R ABS H Limit:	1.000
Substr Depletion:	
Reagent Blank:	3.000
R ABS Deviation:	YES (***)
Cal Low Limit:	
Cal High Limit:	(***)
Factor:	(***)
MONO MODE	
Name:	CPK
Sample Blank:	NO
R1 Bottle:	25 ml
Normal Volume:	240 ul
Re-run Volume:	249 ul
SAMPLE	
Normal Volume:	12 ul
Re-run Volume:	3 ul
Delay Min Time:	129, 293
Linearity Limit:	10.0%
Predilution:	
Incubation Time:	
Point One, Two:	
Low Absorbance:	-0.100
High Absorbance:	3.000
R ABS L Limit:	-0.100
R ABS H Limit:	1.000
Substr Depletion:	
Reagent Blank:	3.000
R ABS Deviation:	YES (***)
Cal Low Limit:	
Cal High Limit:	(***)
Factor:	(***)

(*) Dados colocados pelo usuário
 (**) Colocar o valor correspondente do calibrador
 (***) Dados calculados pelo analisador
 (#) Preparar reagente de trabalho (4 partes do R1 para 1 parte do R2)

APLICAÇÃO PARA BTR 810

Name:	CKNAC
Point Final:	U/L
Units:	U/L
Mode:	Latium
Filter:	340nm
Tempo Estab:	
Factor:	
Tempo de Incubação:	60
Tempo de Interação:	60
Nº de Interações:	3
Temperatura:	37°C
Volume Amostrado:	0400
Tempo Resposta:	Crescente
Estandart:	(*)

APLICAÇÃO PARA QUICK LAB

Mode:	Chélico
Latium:	
Filter:	340
Temperatura:	37°C
Volume Amo:	0500
Unidade:	U/L
Limite Lin:	1300 U/L
Inclinção:	Crescente
Cálculo:	PADRAO
Padão:	(*)
Factor:	
Delay Inicial:	60
Quant Intery:	3
Tempo Intery:	60
Tempo Estab:	

APLICAÇÃO PARA BIO 2000

Mode:	CIN
WL1:	340
Blank:	37°C
Bk Area Pad:	
Temp:	
Vol Asmr:	0400
Ref:	080
Pad:	
Padão:	SIM
Pad:	ÔNICA
Unit:	(**)
Unit:	U/L
Dec:	0
Int Clin:	080
u" Inl:	3
dAMIN:	0.380
%Lim Lin:	30
Dir:	INCR
Lim Lin - Min/Max:	
Abs Real - Min/Max:	0.000 / 1.000
Abs Pad - Min/Max:	
Vol'n - Min/Max:	0025 / 0180

APLICAÇÃO PARA RA-XT

Name:	CKNAC
Immunosay:	NO (0)
Chemistry Type:	Zen Order (0)
Bic Type:	
Immune Chemistry:	No
% Sample Volume:	60 (25ul)
Wavelength:	340 nm (1)
Biochemical Chemistry:	
Biochemical Factor:	NO (0)
K1:	
K2:	
Bic Limit 1:	
Bic Limit 2:	
Detection Limit:	
Delay Time:	130
Blank Type:	NO Blank
Incubation:	
% Reagent Volume:	74 (379 ul)
2nd Reagent:	NO (0)
2nd Reagent Volume:	
A2 Delay:	
Units:	3 (U/L)
Unit Factor:	1
Decimal Point:	0
RBL Low:	0.000
RBL High:	0.800
Range Low:	0
Range High:	1300
Calibration Factor:	(*)
Reagent Rate:	0.0
Standard Value:	(**)
Normal Low:	24
Normal High:	195
Slates:	1
Intensify:	0
C1*10-E-6:	0.0
C2*10-E-6:	89999.01
D1*10-E-6:	10.89
Del.R:	0.015
Linear Factor:	
Final Limit:	
Endoan.Limit:	

(*) Colocar 1 como valor inicial. O valor do CAL FACT é determinado pelo ensaio de calibração
 (***) Colocar o valor correspondente do calibrador

APLICAÇÃO PARA AIRONE

Measure Unit: U/L	Decimals: 0	Reaction Type: Kinetic		
Volume (ul):	Serum: 20	Plasma: 20	Urine:	
	Reagent 1: 400	Reagent 2: 0		
Abs Range (m Abs):	Min: 0	Max: 1000		
Linearity Limit:	1300	Reagent Blank: NO		
Contaminating:	NO	Reagent Blank: NO		
Filter 1:	340	Filter 2: None		
Time (sec):	Mix 1: 0.00	Incubation 1: 120	Lag Phase: 20	
	Mix 2: 0.00	Incubation 2: 0	Measure: 30	
Measurement Type: STANDARD		Factor: 0.00		
Normal Range				
Age (yrs)	Humans		Mice	
	Min.	Max.	Min.	Max.
Below 10:	0.00			
From 10 to 80:	24.00	195.00	24.00	170.00
Over:	0.00			

Preparar reagente de trabalho (4 partes do R1 para 1 parte do R2)

Disponemos de programações para outros analisadores e programações utilizando o reagente na forma BIREAGENTE ou como reagente de trabalho (MONOREAGENTE). Para solicitações entre em contato com SAC EBRAM.