

COD 11790 1 x 50 mL	COD 11791 4 x 50 mL
CONSERVAR A 2-8°C	
Reagentes para medir a concentração de CK Só para uso <i>in vitro</i> nos laboratórios clínicos	

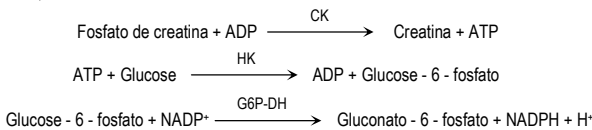
CREATINE KINASE (CK)



CREATINA KINASE (CK)
IFCC

FUNDAMENTO DO MÉTODO

A creatina kinase (CK) cataliza a fosforilação do ADP por o fosfato de creatina, obtendo-se creatina e ATP. A concentração catalítica determina-se, empregando as reações acasaladas da hexoquinase e glucose-6-fosfato desidrogenase, a partir da velocidade de formação do NADPH, medido a 340 nm¹.



CONTEÚDO

	COD 11790	COD 11791
A. Reagente	1 x 40 mL	4 x 40 mL
B. Reagente	1 x 10 mL	4 x 10 mL

COMPOSIÇÃO

- A. Reagente: Imidazole 125 mmol/L, EDTA 2 mmol/L, acetato de magnésio 12,5 mmol/L, D-glucose 25 mmol/L, N-acetilcisteína 25 mmol/L, hexoquinase 6000 U/L, NADP 2,4 mmol/L, pH 6,7.
- B. Reagente: Fosfato de creatina 250 mmol/L, ADP 15 mmol/L, AMP 25 mmol/L, P1,P5-di(adenosina-5'-)pentafosfato 102 µmol/L, glucose-6-fosfato desidrogenase 8000 U/L.

CONSERVAÇÃO

Conservar a 2-8°C.

Os reagentes são estáveis até à data de caducidade indicada na etiqueta, desde que se conservem bem fechados e se evite a contaminação durante o seu uso.

Indicações de deterioração:

- Reagentes: Presença de partículas, turvação, absorvância do branco superior a 0,300 a 340 nm (cuvete de 1 cm).

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Reagente de Trabalho: Acrescentar o conteúdo de um frasco do RB em um frasco do Reagente A. Misturar suavemente. Se for desejado preparar outros volumes, misturar na proporção: 4 mL de Reagente A + 1 mL de Reagente B.

Estável 15 dias a 2-8°C. O reagente de trabalho tem que protegido da luz.

MATERIAL ADICIONAL

- Analisador, espectrofotômetro ou fotômetro com cuvete termostatizada a 25, 30 ou 37°C para leituras a 340 nm
- Cuvetes de 1 cm de passo de luz.

AMOSTRAS

Soro recolhido mediante procedimentos standard.

A creatina kinase em soro é estável 7 dias a 2-8°C.

PROCEDIMENTO

- Pré-aquecer o Reagente de Trabalho e o equipamento à temperatura de reacção.
- Pipetar numa cuvete: (Nota 1)

Amostra	50 µL
Reagente de Trabalho	1,0 mL

- Misturar e inserir a cuvete no fotômetro. Ligar o cronómetro.
- Após 3 minutos, apontar a absorvância inicial e efectuar novas leituras cada minuto, durante 3 minutos.
- Calcular a razão do incremento da absorvância por minuto ($\Delta A/\text{min}$).

CÁLCULOS

A concentração de CK na amostra calcula-se a partir da seguinte fórmula geral:

$$\Delta A/\text{min} \times \frac{Vt \times 10^6}{\epsilon \times l \times Vs} = \text{U/L}$$

O coeficiente da absorção molar (ϵ) de NADPH a 340 nm é 6.300, o passo de luz (l) é 1 cm, o volume total de reacção (Vt) é 1,05, o volume da amostra (Vs) é 0,05, e 1 U/L equivale a 16,67 nkat/L. Deduzem-se os seguintes factores para calcular a concentração catalítica:

$\Delta A/\text{min}$	$\times 3333 = \text{U/L}$ $\times 55561 = \text{nkat/L}$
-----------------------	--

VALORES DE REFERÊNCIA

Temperatura Reacção	Homens ²		Mulheres ²	
	U/L	nKat/L	U/L	nKat/L
25°C	10-65	167-1084	7-55	117-917
30°C	15-105	250-1750	10-80	167-1334
37°C	38-174	633-2900	26-140	433-2334

As crianças apresentam concentrações de CK mais elevadas que os adultos². Estes valores dão-se unicamente a título orientativo; é recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios intervalos de referência.

CONTROLE DE QUALIDADE

Recomenda-se o uso dos Soros Controle de Bioquímica níveis I (Cod. 18005, 18009 e 18042) e II (Cod. 18007, 18010 e 18043) para verificar a funcionalidade do procedimento de medida.

Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio programa de Controle de Qualidade interno, assim como procedimentos de correcção como em casos em que os controles não cumpram com as tolerâncias aceitáveis.

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

– Limite de detecção: 9,2 U/L = 153 nkat/L

– Limite de linearidade: 1300 U/L = 21671 nkat/L. Quando se obtêm valores superiores, diluir a amostra 1/2 com água destilada e repetir a medição.

– Repetibilidade (intraensaio):

Concentração média	CV	n
175 U/L = 2917 nkat/L	1,8 %	20
567 U/L = 9452 nkat/L	0,7 %	20

– Reproducibilidade (interensaio):

Concentração média	CV	n
175 U/L = 2917 nkat/L	1,3 %	25
567 U/L = 9452 nkat/L	1,1 %	25

– Sensibilidade: 0,3 $\Delta\text{mA}\cdot\text{L}/\text{U}\cdot\text{min}$ = 5 $\Delta\text{mA}\cdot\text{L}/\text{nkat}\cdot\text{min}$

– Veracidade: Os resultados obtidos com estes reagentes não mostram diferenças sistemáticas significativas quando comparados com reagentes de referência. Os detalhes do estudo comparativo estão abaixo disponíveis.

– Interferências: A bilirrubina (< 20 mg/dL) e a hemólise (hemoglobina < 10 g/L) não interferem. A lipemia interfere (triglicéridos > 5 g/L). Outros medicamentos e substâncias podem interferir³.

Estes dados foram obtidos utilizando um analisador. Os resultados podem variar ao mudar de equipamento ou ao realizar-se o procedimento manualmente.

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

A creatina kinase (CK) desempenha uma importante função no músculo proporcionando ATP, quando o músculo se contrai, a partir de ADP e utilizando creatina fosfato como reservatório de fosforilação.

A CK sérica provem fundamentalmente do músculo e a sua concentração depende de uma série de variantes fisiológicas (sexo, idade, massa muscular, actividade física e raça).

A concentração sérica de CK encontra-se notavelmente elevada em pacientes com algumas das doenças do músculo esquelético (distrofia muscular, miosite, polimiosite, hipertermia maligna, trauma, rabdomiolise aguda), do sistema nervoso central (doenças cerebrovasculares agudas, isquemia cerebral, síndrome de Reye) e de tiroides (hipotiroidismo)^{2,4}.

Observam-se concentrações elevadas de CK ao cabo de 3-6 horas de um infarte de miocárdio alcançando valores máximos às 24-36 horas. A concentração volta à normalidade em 3-4 dias devido ao enzima ser rapidamente eliminado do plasma^{2,4}.

O diagnóstico clínico não se deve realizar tendo em conta o resultado de um unico teste, mas deve integrar-se nos dados clínicos e de laboratório.

NOTAS

- Estes reagentes podem utilizar-se na maioria dos analisadores automáticos. Solicite informação ao seu distribuidor.

BIBLIOGRAFIA

- IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 7: IFCC method for creatine kinase. JIFCC 1989; 1: 130-139.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1999.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.