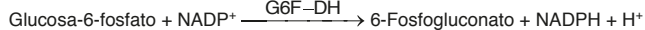
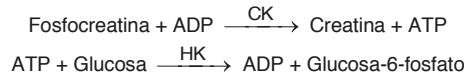


Determinación cuantitativa de creatina quinasa (CK) IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La creatina quinasa (CK) cataliza la transferencia reversible de un grupo fosfato de la fosfocreatina al ADP. Esta reacción se acopla con otras catalizadas por la hexoquinasa (HK) y por la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6F-DH):



La velocidad de formación de NADPH, determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de CK en la muestra ensayada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La creatina quinasa es una enzima intracelular, distribuida por todo el organismo humano. Su función fisiológica está asociada con la adenosina trifosfato (ATP) producida cuando el músculo se contrae. El nivel de CK en suero está elevado en pacientes con alteraciones del músculo esquelético y en infartos de miocardio^{1,5,6}. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

| | | |
|---------------------|---|------------|
| R 1 Tampón | Imidazol pH 7,0 | 100 mmol/L |
| | Glucosa | 20 mmol/L |
| | Acetato de magnesio | 10 mmol/L |
| | EDTA | 2 mmol/L |
| R 2 Substrato | ADP | 2 mmol/L |
| | AMP | 5 mmol/L |
| | di-Adenosina-5- pentafosfato | 10 mmol/L |
| | NADP ⁺ | 2 mmol/L |
| | Hexoquinasa (HK) | 2500 U/L |
| | Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6F-DH) | 1500 U/L |
| | N-acetilcisteína | 20 mmol/L |
| Fosfato de creatina | 30 mmol/L | |

Opcional

| | | |
|------------------------|--------------------------|--------------|
| CK-Nac / CK-MB CONTROL | Suero humano liofilizado | Ref: 1002260 |
|------------------------|--------------------------|--------------|

PRECAUCIONES

R1: H360-Puede perjudicar la fertilidad o dañar al feto. Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT):
Ref: 1001050 Disolver (→) un comprimido de R 2 en un vial de R 1.
Ref: 1001051 Disolver (→) un comprimido de R 2 en 15 mL de R 1.
Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.
Estabilidad: 5 días a 2-8°C o 24 horas a temperatura ambiente (15-25°C).

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar las tabletas si aparecen fragmentadas. No usar reactivos fuera de la fecha indicada. **Indicadores de deterioro de los reactivos:**
- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias del Blanco a 340 nm \geq 1,00.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 340 nm.
- Baño termostable a 25°C, 30°C ó 37° C (\pm 0,1°C).
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma¹. Estabilidad: 7 días a 2-8°C, protegida de la luz. La actividad de la creatin quinasa disminuye un 10% tras 1 día a 2-5°C ó tras 1 hora a 15-25°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 340 nm
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura constante: 25°C / 30°C / 37°C

- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.
- Pipetear en una cubeta:

| | 25-30°C | 37°C |
|--------------------|---------|------|
| RT (mL) | 1,0 | 1,0 |
| Muestra (μ L) | 40 | 20 |

- Mezclar, incubar 2 minutos.
- Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronometro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos.
- Calcular el promedio de la diferencia de absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{min}$).

CÁLCULOS

$$\begin{aligned} 25^\circ\text{-}30^\circ\text{C} \quad \Delta A / \text{min} \times 4127 &= \text{U/L CK} \\ 37^\circ\text{C} \quad \Delta A / \text{min} \times 8095 &= \text{U/L CK} \end{aligned}$$

Unidades: La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1 μ mol de sustrato por minuto, en condiciones estándar. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).

Factores de conversión de temperaturas

Los resultados pueden transformarse a otras temperaturas multiplicando por:

| Temperatura de medición | Factor para convertir a | | |
|-------------------------|-------------------------|------|------|
| | 25°C | 30°C | 37°C |
| 25°C | 1,00 | 1,56 | 2,44 |
| 30°C | 0,64 | 1,00 | 1,56 |
| 37°C | 0,41 | 0,63 | 1,00 |

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica. Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA¹

| | 25°C | 30°C | 37°C |
|----------------|--------|---------|---------|
| Hombres, hasta | 80 U/L | 130 U/L | 195 U/L |
| Mujeres, hasta | 70 U/L | 110 U/L | 170 U/L |

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección 0,878 U/L hasta el límite de linealidad 1300 U/L.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/10 con NaCl 9 g/L y multiplicar el resultado final por 10.

Precisión:

| | Intraserie (n= 20) | | Interserie (n= 20) | |
|-------------|--------------------|------|--------------------|------|
| | Media (U/L) | SD | Media (U/L) | SD |
| Media (U/L) | 144 | 478 | 146 | 494 |
| SD | 3,88 | 6,98 | 4,55 | 9,57 |
| CV (%) | 2,69 | 1,49 | 3,11 | 1,94 |

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,0001 $\Delta A/\text{min}$.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de regresión (r^2): 0,997.

Ecuación de la recta de regresión: $y = 1,031x - 0,5355$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

No se ha observado interferencia de la bilirrubina hasta 20 mg/dL y hemoglobina hasta 10 g/L^{1,2}. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la Creatina quinasa^{3,4}.

NOTAS

SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbot B et al. Creatinine kinase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984: 1112-1116.
- Gerhardt W et al. Creatine kinase B-Subunit activity in serum after immunohinhibition of M-Subunit activity. Clin Chem 1979;(25/7): 1274-1280.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref:1001050

Cont.

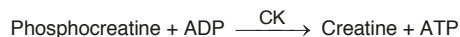
R1: 20 x 2,5 mL, R2: 20 → 2,5 mL

Quantitative determination of creatine kinase (CK) IVD

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

Creatine kinase (CK) catalyses the reversible transfer of a phosphate group from phosphocreatine to ADP. This reaction is coupled to those catalysed by hexokinase (HK) and glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6P-DH):



The rate of NADPH formation, measured photometrically, is proportional to the catalytic concentration of CK present in the sample^{1,2}.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Creatine kinase is a cellular enzyme with wide tissue distribution in the body. Its physiological role is associated with adenosine triphosphate (ATP) generation for contractile or transport systems.

Elevated CK values are observed in diseases of skeletal muscle and after myocardial infarction^{1,5,6}.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

| | | |
|-------------------------|--|------------|
| R 1 Buffer | Imidazol pH 7,0 | 100 mmol/L |
| | Glucose | 20 mmol/L |
| | Magnesium acetate | 10 mmol/L |
| | EDTA | 2 mmol/L |
| R 2 Substrate | ADP | 2 mmol/L |
| | AMP | 5 mmol/L |
| | di-Adenosine-5- pentaphosphate | 10 mmol/L |
| | NADP ⁺ | 2 mmol/L |
| | Hexokinase (HK) | 2500 U/L |
| | Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6P-DH) | 1500 U/L |
| | N-acetyl cysteine | 20 mmol/L |
| | Creatine phosphate | 30 mmol/L |

Optional

| | | |
|-------------------------------|-------------------------|--------------|
| CK-Nac / CK-MB CONTROL | Lyophilized human serum | Ref: 1002260 |
|-------------------------------|-------------------------|--------------|

PRECAUTIONS

R1: H360- May damage fertility or the unborn child.
Follow the precautionary statements given in MSDS and label of the product.

PREPARATION

Working reagent (WR):
Ref: 1001050. Dissolve (→) 1 tablet of R 2 Substrate with one vial of R 1.
Ref: 1001051. Dissolve (→) 1 tablet of R 2 Substrate with 15 mL of R 1.
Cap vial and mix gently to dissolve contents.
Stability: 5 days at 2-8°C or 24 hours at room temperature (15-25°C).

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use the tablets if appears broken.

Do not use reagents over the expiration date.

Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 340 nm ≥ 1,00.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 340 nm.
- Thermostatic bath at 25°C, 30°C ó 37° C (± 0,1°C).
- Matched cuvettes 1,0 cm light path.
- General laboratory equipment.

SAMPLES

Serum or plasma¹: Stability 7 days at 2-8°C, protected from light.
The creatin kinase activity decreases 10% after 1 day at 2-5°C or after 1 hour at 15-25°C.

PROCEDURE

- Assay conditions:
Wavelength: 340 nm
Cuvette: 1 cm light path
Constant temperature: 25°C / 30°C / 37°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water or air.
- Pipette into a cuvette:

| | | |
|-------------|-----------|------|
| | 25 - 30°C | 37°C |
| WR (mL) | 1,0 | 1,0 |
| Sample (µL) | 40 | 20 |

- Mix, incubate for 2 minutes.
- Read initial absorbance (A) of the sample, start the stopwatch and read absorbances at 1 minute intervals thereafter for 3 minutes.
- Calculate the difference between absorbances and the average absorbance differences per minute (ΔA/min).

CALCULATIONS

$$25^{\circ} - 30^{\circ}\text{C} \quad \Delta A / \text{min} \times 4127 = \text{U/L CK}$$

$$37^{\circ}\text{C} \quad \Delta A / \text{min} \times 8095 = \text{U/L CK}$$

Units: One international unit (IU) is the amount of enzyme that transforms 1 µmol of substrate per minute, in standard conditions. The concentration is expressed in units per litre of sample (U/L).

Temperature conversion factors

To correct results to other temperatures multiply by:

| Assay temperature | Conversion factor to | | |
|-------------------|----------------------|------|------|
| | 25°C | 30°C | 37°C |
| 25°C | 1,00 | 1,56 | 2,44 |
| 30°C | 0,64 | 1,00 | 1,56 |
| 37°C | 0,41 | 0,63 | 1,00 |

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINTROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and technique for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES¹

| | | | |
|--------------|--------|---------|---------|
| | 25°C | 30°C | 37°C |
| Men, up to | 80 U/L | 130 U/L | 195 U/L |
| Women, up to | 70 U/L | 110 U/L | 170 U/L |

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: From detection limit of 0,878 U/L to linearity limit of 1300 U/L.
If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/10 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 10.

Precision:

| Mean (U/L) | Intra-assay (n=20) | | Inter-assay (n=20) | |
|------------|--------------------|------|--------------------|------|
| | 144 | 478 | 146 | 494 |
| SD | 3,88 | 6,98 | 4,55 | 9,57 |
| CV (%) | 2,69 | 1,49 | 3,11 | 1,94 |

Sensitivity: 1 U/L = 0,0001 ΔA/min.

Accuracy: Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).

The results obtained using 50 samples were the following:

Correlation coefficient (r)²: 0,997.

Regression equation: y = 1,031x - 0,5355.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES

No interferences were observed with bilirubin up to < 20 mg/dL and hemoglobin up to 10 g/L^{1,2}. A list of drugs and other interfering substances with CK determination has been reported^{3,4}.

NOTES

SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.

BIBLIOGRAPHY

- Abbot B et al. Creatinine kinase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984: 1112-1116.
- Gerhardt W et al. Creatine kinase B-Subunit activity in serum after immunohinhibition of M-Subunit activity. Clin Chem 1979;(25/7): 1274-1280.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PACKAGING

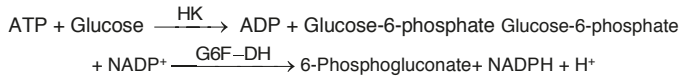
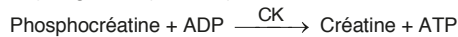
Ref:1001050 Cont. R1: 20 x 2,5 mL, R2: 20 → 2,5 mL

**Détermination quantitative de créatine kinase (CK)
IVD**

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

La créatine kinase (CK) catalyse le transfert réversible d'un groupe de phosphates de la phosphocréatine vers l'ADP. Cette réaction s'accouple avec d'autres réactions catalysées par l'hexokinase (HK) et par la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6F-DH):



La vitesse de formation de NADPH, déterminée par photométrie, est proportionnelle à la concentration catalytique en CK présente dans l'échantillon testé^{1,2}.

SIGNIFICATION CLINIQUE

La créatine kinase est une enzyme intracellulaire, répartie dans tout l'organisme humain. Sa fonction physiologique est associée à l'adénosine triphosphate (ATP) produite lorsque le muscle se contracte.

Le niveau de CK dans le sérum est élevé chez les patients souffrant d'altérations musculaires squelettiques et d'infarctus du myocarde^{1,5,6}.

Le diagnostic doit être réalisé en tenant compte des données cliniques et des données de laboratoire.

REACTIFS

| | | |
|-------------------------|---|------------|
| R 1 Tampon | Imidazole pH 7,0 | 100 mmol/L |
| | Glucose | 20 mmol/L |
| | Acétate de magnésium | 10 mmol/L |
| | EDTA | 2 mmol/L |
| R 2 Substrats | ADP | 2 mmol/L |
| | AMP | 5 mmol/L |
| | di-Adénosine-5- penta phosphate | 10 mmol/L |
| | NADP ⁺ | 2 mmol/L |
| | Hexokinase (HK) | 2500 U/L |
| | Glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6F-DH) | 1500 U/L |
| | N-acétylcisteine | 20 mmol/L |
| Phosphate de créatine | 30 mmol/L | |

Optional

| | | |
|-------------------------------|------------------------|--------------|
| CK-Nac / CK-MB CONTROL | sérum human Lyophilisé | Ref: 1002260 |
|-------------------------------|------------------------|--------------|

PRECAUTIONS

R1 : H360-Peut nuire à la fertilité ou au fœtus.

Suivez les conseils de prudence donnés en SDS et étiquette.

PREPARATION

Réactif de travail (RT):

Réf: 1001050 Dissoudre (→) une tablette de R 2 dans une capsule de R 1.

Réf: 1001051 Dissoudre (→) une tablette de R 2 dans 15 mL de R 1.

Refermer et mélanger doucement pour dissoudre le contenu.

Stabilité: 5 jours à 2-8°C ou 24 heures à température ambiante (15-25°C).

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, et si les flacons sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination.

Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

Ne pas utiliser les tablettes si elles sont fragmentées.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorbation du blanc à 340 nm \geq 1,00.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour lectures à 340 nm.
- Bain thermostable à 25°C, 30°C ou 37°C (\pm 0,1°C)
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire

ECHANTILLONS

Sérum ou plasma¹. Stabilité: 7 jours à 2-8°C, à l'abri de la lumière.

L'activité de la créatine kinase diminue de 10% après 1 jour à 2-5°C ou après 1 heure à 15-25°C.

PROCEDURE

1. Conditions de test:

Longueur d'ondes: 340 nm
Cuvette: 1 cm d'éclairage
Température: 25°C/30°C/37°C

- Mélanger et laisser incuber 2 minutes.
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée ou air.
- Pipetter dans une cuvette:

| | | |
|------------------------|---------|------|
| | 25-30°C | 37°C |
| RT (mL) | 1,0 | 1,0 |
| Echantillon (μ L) | 40 | 20 |

4. Mélanger et laisser incuber 2 minutes.

5. Lire l'absorbation (A) initiale de l'échantillon, mettre en route le chronomètre et lire l'absorbation à chaque minute pendant 3 minutes.

6. Calculer la moyenne de l'augmentation d'absorbation par minute (ΔA /min).

CALCULS

25°- 30°C ΔA / min x 4127 = U/L CK

37°C ΔA / min x 8095 = U/L CK

Unités: L'unité internationale (UI) correspond à la quantité d'enzymes qui converti 1 μ mol de substrats par minute, sous des conditions standard. La concentration est exprimée en unité par litre (U/L).

Facteurs de conversion de températures

Les résultats peuvent se transformer à d'autres températures, en multipliant par:

| Température de mesure | Facteur de conversion à | | |
|-----------------------|-------------------------|------|------|
| | 25°C | 30°C | 37°C |
| 25°C | 1,00 | 1,56 | 2,44 |
| 30°C | 0,64 | 1,00 | 1,56 |
| 37°C | 0,41 | 0,63 | 1,00 |

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibre.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE¹

| | | | |
|-----------------|--------|---------|---------|
| | 25°C | 30°C | 37°C |
| Hommes, jusqu'à | 80 U/L | 130 U/L | 195 U/L |
| Femmes, jusqu'à | 70 U/L | 110 U/L | 170 U/L |

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection 0,878 U/L jusqu'à la limite de linéarité 1300 U/L.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/10 avec du NaCl 9 g/L et multiplier le résultat final par 10.

Précision:

| | Intra-série (n= 20) | | Inter-série (n= 20) | |
|---------------|---------------------|------|---------------------|------|
| | Moyenne (U/L) | SD | CV (%) | |
| Moyenne (U/L) | 144 | 478 | 146 | 494 |
| SD | 3,88 | 6,98 | 4,55 | 9,57 |
| CV (%) | 2,69 | 1,49 | 3,11 | 1,94 |

Sensibilité analytique: 1 U/L = 0,0001 ΔA / min.

Exactitude: Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus sur 50 échantillons ont été les suivants :

Coefficient de régression (r^2) : 0,997.

Equation de la droite de régression: $y=1,031x - 0,5355$.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

INTERFERENCES

Aucune interférence n'a été observée sur la bilirubine jusqu'à 20 mg/dL et sur l'hémoglobine jusqu'à 10 g/L^{1,2}. Différentes drogues ont été définies ainsi que d'autres substances qui interfèrent dans la détermination de la créatine kinase.^{3,4}

REMARQUES

SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Abbot B et al. Creatinine kinase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984: 1112-116.
- Gerhardt W et al. Creatine kinase B-Subunit activity in serum after immunoinhibition of M-Subunit activity. Clin Chem 1979;(25/7): 1274-1280.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTATION

Ref:1001050

Cont.

R1: 20 x 2,5 mL, R2: 20 → 2,5 mL

Creatinina quinase

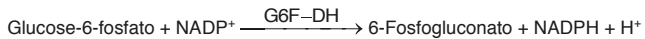
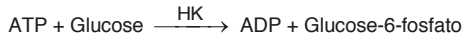
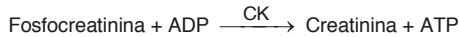
NAC. Cinético UV

Determinação quantitativa de creatinina quinase (CK) IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCÍPIO DO MÉTODO

A creatinina quinase (CK) cataliza a transferência reversível de um grupo fosfato da fosfocreatinina a ADP. Esta reacção adiciona-se a outras catalizadas pela hexoquinase (HK) e pela glucose-6-fosfato desidrogenase (G6F-DH):



A velocidade de formação de NADPH, determinada por fotometria, é proporcional à concentração catalítica de CK na amostra testada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A creatinina quinase é uma enzima intracelular, que se encontra em todo o organismo humano. A sua função fisiológica está associada à adenosina trifosfato (ATP) produzida quando o músculo se contrai. O nível de CK no soro está elevado em pacientes com alterações do músculo esquelético e nos enfartes de miocárdio^{1,5,6}. O diagnóstico clínico deve ser realizado tendo em atenção todos os dados clínicos e laboratoriais.

REAGENTES

| | | |
|-----------------------|--|------------|
| R 1 Tampão | Imidazol pH 7,0 | 100 mmol/L |
| | Glucose | 20 mmol/L |
| | Acetato de magnésio | 10 mmol/L |
| | EDTA | 2 mmol/L |
| R 2 Substrato | ADP | 2 mmol/L |
| | AMP | 5 mmol/L |
| | di-Adenosina-5- pentafofato | 10 mmol/L |
| | NADP ⁺ | 2 mmol/L |
| | Hexoquinase (HK) | 2500 U/L |
| | Glucose-6-fosfato desidrogenase (G6F-DH) | 1500 U/L |
| | N-acetilcisteína | 20 mmol/L |
| Fosfato de creatinina | 30 mmol/L | |

Opcional

| | | |
|------------------------|-------------------------|--------------|
| CK-Nac / CK-MB CONTROL | Soro humano liofilizado | Ref: 1002260 |
|------------------------|-------------------------|--------------|

PRECAUÇÕES

R1: H360-Pode afectar a fertilidade ou o nascituro. Seguir os conselhos de prudência dados em SDS e etiqueta.

PREPARAÇÃO

Reagente de trabalho (RT):
 Ref: 1001050 Dissolver (→) um comprimido R 2 num frasco de R 1.
 Ref: 1001051 Dissolver (→) um comprimido de R 2 em 15 mL de R 1.
 Tapar e misturar suavemente até dissolução do conteúdo.
 Estabilidade: 5 dias a 2-8°C ou 24 horas a temperatura ambiente (15-25°C).

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis, até ao final do prazo de validade indicado na etiqueta, quando os frascos são mantidos bem fechados a 2-8°C, protegidos da luz e se evita a sua contaminação. Não usar os comprimidos se estes estiverem quebrados. Não usar reagentes fora do prazo de validade indicado.

Indicadores de deterioração dos reagentes:

- Presença de partículas e turvação.
- Absorvância do branco a 340 nm \geq 1,00.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro ou analisador para leituras a 340 nm.
- Banho termostável a 25°C, 30°C ó 37°C (\pm 0,1°C).
- Cuvetes de 1,0 cm de passo de luz.
- Equipamento habitual em laboratório.

AMOSTRAS

Soro ou plasma¹. Estabilidade: 7 dias a 2-8°C, protegida da luz. A actividade da creatinina quinase diminui cerca de 10% após 1 dia a 2-5°C ou ao fim de 1 hora a 15-25°C.

PROCEDIMENTO

- Condições do ensaio:
 Comprimento de onda: 340 nm
 Cuvete: 1 cm passo de luz
 Temperatura constante 25°C / 30°C / 37°C
- Ajustar o espectrofotómetro a zero com água destilada ou ar.

3. Pipetar para uma cuvete:

| | | |
|--------------------|---------|------|
| | 25-30°C | 37°C |
| RT (mL) | 1,0 | 1,0 |
| Amostra (μ L) | 40 | 20 |

- Misturar, incubar 2 minutos.
- Ler a absorvância (A) inicial da amostra, por o cronómetro a funcionar e ler a absorvância a cada minuto durante 3 minutos.
- Calcular a média do aumento de absorvância por minuto (ΔA /min).

CÁLCULOS

$$25^\circ - 30^\circ\text{C} \quad \Delta A / \text{min} \times 4127 = \text{U/L CK}$$

$$37^\circ\text{C} \quad \Delta A / \text{min} \times 8095 = \text{U/L CK}$$

Unidades: A unidade internacional (UI) é a quantidade de enzima que converte 1 μ mol de substrato por minuto, e condições standardizadas. A concentração expressa-se em unidades por litro (U/L).

Factores de conversão de temperaturas

Os resultados podem transformar-se em outras temperaturas multiplicando por:

| Temperatura de medição | Factor para converter a | | |
|------------------------|-------------------------|------|------|
| | 25°C | 30°C | 37°C |
| 25°C | 1,00 | 1,56 | 2,44 |
| 30°C | 0,64 | 1,00 | 1,56 |
| 37°C | 0,41 | 0,63 | 1,00 |

CONTROLO DE QUALIDADE

É conveniente analisar juntamente com as amostras soros controlo padronizados: SPINROL H Normal e Patológico (Ref. 1002120 e 1002210). Se os valores determinados estiverem fora do intervalo de tolerância, deve ser revisto o instrumento, os reagentes e a técnica. Cada laboratório deve dispor do seu próprio Controlo de Qualidade e estabelecer correcções caso os controlos não cumpram com as tolerâncias.

VALORES DE REFERÊNCIA¹

| | 25°C | 30°C | 37°C |
|---------------|--------|---------|---------|
| Homens, até | 80 U/L | 130 U/L | 195 U/L |
| Mulheres, até | 70 U/L | 110 U/L | 170 U/L |

Estes valores são orientativos. É recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO

Intervalo de medida: Desde o limite de detecção 0,878 U/L até ao limite de linearidade de 1300 U/L.

Se a concentração da amostra for superior ao limite de linearidade, diluir 1/10 com NaCl 9 g/L e multiplicar o resultado final por 10.

Precisão:

| | Intrasérie (n= 20) | | Intersérie (n= 20) | |
|-------------|--------------------|------|--------------------|------|
| | Média (U/L) | DP | Média (U/L) | DP |
| Média (U/L) | 144 | 478 | 146 | 494 |
| DP | 3,88 | 6,98 | 4,55 | 9,57 |
| CV (%) | 2,69 | 1,49 | 3,11 | 1,94 |

Sensibilidade analítica: 1 U/L = 0,0001 ΔA /min.

Exactidão: Os reagentes SPINREACT (y) não mostram diferenças sistemáticas significativas quando comparados com outros reagentes comerciais (x).

Os resultados obtidos utilizando 50 amostras foram os seguintes:

Coefficiente de correlação (r)²: 0,997.

Equação de regressão: $y=1,031x - 0,5355$.

As características do método podem variar segundo o analisador utilizado.

INTERFERÊNCIAS

Não foi observada interferência da bilirrubina até 20 mg/dL e hemoglobina até 10 g/L^{1,2}. Foram descritas várias drogas e outras substâncias que interferem na determinação da Creatinina quinase^{3,4}.

NOTAS

SPINREACT dispõe de instruções detalhadas para a aplicação deste reagente em analisadores distintos.

BIBLIOGRAFIA

- Abbot B et al. Creatinine kinase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984: 1112-1116.
- Gerhardt W et al. Creatine kinase B-Subunit activity in serum after immunoinhibition of M-Subunit activity. Clin Chem 1979;(25/7): 1274-1280.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

APRESENTAÇÃO

Ref: 1001050

Cont.

R1: 20 x 2,5 mL, R2: 20 → 2,5 mL