

Utilização prevista

Para a determinação quantitativa da atividade da creatina quinase no soro utilizando os analisadores Yumizen C230 e Yumizen C240. **Rx Only.**

Resumo e princípio

Os níveis séricos de creatina quinase (CK) demonstraram ser valiosos na avaliação de doenças cardíacas e musculares esqueléticas, incluindo enfarte do miocárdio e distrofia muscular.¹ A determinação das isoenzimas creatina quinase e desidrogenase láctica fornece um diagnóstico definitivo de enfarte agudo do miocárdio.²

O procedimento cinético apresentado é uma modificação de Szasz³ da técnica de Rosalki⁴, que otimiza a reação através da reativação da atividade de CK com N-acetil-L-cisteína (NAC).

A CK catalisa especificamente a transfosforilação de ADP para ATP. Através de uma série de reações enzimáticas acopladas, é produzido NADPH a uma taxa diretamente proporcional à atividade de CK. O método determina o aumento de absorvância de NADPH por minuto a 340 nm.

Reagentes

O R1 de CK (tampão) contém: Tampão imidazol (pH 6,7) 100,0 mmol/L; NADP 2,0 mmol/L; HK (fermento de padeiro) 2,5 KU/L; glicose 20,0 mmol/L; acetato de magnésio 10,0 mmol/L; EDTA 2,0 mmol/L e N-acetilcisteína (NAC) 20,0 mmol/L.

O R2 de CK (reagente enzimático) contém: Tampão imidazol (pH 6,7) 100,0 mmol/L; ADP 2,0 mmol/L; AMP 5,0 mmol/L; diadenosina pentafosfato 10,0 mmol/L; fosfato de creatina 30,0 mmol/L; G₆PDH (fermento de padeiro) 1,5 KU/L e EDTA 2,0 mmol/L.

Preparação dos reagentes

Os reagentes são fornecidos sob a forma de líquidos prontos a utilizar.

Armazenamento dos reagentes

- Os reagentes devem ser transparentes e incolores. Elimine se qualquer um dos reagentes estiver turvo ou contiver matéria particulada.
- Armazene o R1 e R2 a 2-8°C, protegidos da luz. Se armazenados conforme indicado, os reagentes mantêm-se estáveis até à data de validade.

Precauções

- Este reagente destina-se apenas a diagnóstico *in vitro*.
- Devem ser seguidas as precauções normais de manuseamento de reagentes de laboratório.
- Os reagentes contêm azida de sódio, que pode ser tóxica se for ingerida. A azida de sódio também pode reagir com canalização de chumbo e cobre, formando azidas de metal altamente explosivas. Consulte a Ficha de Dados de Segurança do Material para obter informações atualizadas sobre riscos, perigos e segurança.

Colheita e manuseamento de amostras

- O soro não hemolisado transparente é a amostra preferível. Não são necessários aditivos ou conservantes especiais.
- Sempre que possível, as amostras devem ser separadas e analisadas no dia das colheitas e armazenadas em tubos fechados.
- A atividade de CK no soro mantém-se estável durante três dias a 2-8°C. A adição de agentes sulfidrílicos preserva a atividade de CK durante o armazenamento prolongado.^{5,6} Alguns soros de controlo, no entanto, mostram uma diminuição considerável da atividade de CK apenas algumas horas após a reconstituição.

Interferências

- As injeções intramusculares e o exercício físico intenso podem elevar a CK sérica.
- O cloreto e o sulfato inibem a atividade de CK.

- Os níveis de bilirrubina até 40 mg/dL e os níveis de triglicéridos até 2000 mg/dL não demonstram qualquer interferência neste teste.⁹
- Young, et al. analisaram os efeitos dos medicamentos nos níveis séricos de CK.⁷

Materiais fornecidos

Reagente R1 e R2 de CK.

Materiais necessários, mas não fornecidos

- Analisador Yumizen C230/Yumizen C240
- Manual de utilização do Yumizen C230/Yumizen C240
- Controlo de química, número de catálogo C7592-100

Parâmetros de teste

Teste:	CK	Química:	de Creatina Quinase
N.º de química:	211	Nome em letra de imprensa:	de Creatina Quinase
Tipo de reação:	Cinética	Direção de reação:	Positiva
Onda pri.:	340 nm	Onda sec:	405 nm
Decimal.:	0	Tipo de amostra:	Soro
Tempo de branco:		Tempo de reação:	3 11
Unidade:	U/L	Tempo de incubação:	3

	Vol. de amostra	Aspirado	Diluído	Vol. de reagente	Diluído
Padrão:	5 uL			R1: 180 uL	
Diminuído:	5 uL	20 uL	180 uL	R2: 45 uL	
Aumentado:					

Intervalo de linearidade (padrão):	1-1200	Limite de linearidade:	0.3
Intervalo de linearidade (diminuído):		Redução de substrato:	25,000
Intervalo de linearidade (aumentado):		Abs. de branco misturado:	- 40000 40000
Abs. de branco R1:	- 40000 40000	Estabilidade no equipamento:	30 Dia(s)
Resposta de branco	- 40000 40000	Limite de alarme do reagente:	5
Química dupla:			

Verificação prozona:			
Q1:	Q2:	Q3:	
Q4:	PC:	ABS:	

Utilizar resultado qualitativo:		
Intervalo:		Referência:

Desvio de declive:			
Declive	Desvio	Unidade	
1	0	U/L	

Pré-tratamento:		
Vol. de amostra pré-tratada:	uL	Vol. de reagente pré-tratado:
		uL

Intervalo de ref.:					
Tipo de amostra:	Sexo:	Intervalo de idades:	Intervalo de ref.:	Intervalo crítico:	Unidade:

Parâmetros de configuração da calibração

Quím:	CK			
Definição da calibração				
Modelo matemático:	Fator K			
Fator:	6158000	Réplicas:	2	
Limites de aceitação				
Tempo cal:	24 h			
Dif declive:	DP:			
Sensibilidade:	Repetibilidade:			* Definida pelo utilizador
Deter coef:				
Calib. auto.				
	<input type="checkbox"/> Tempo cal			

Conjunto de Reagentes de Creatina Quinase Pointe

Calibração

A atividade de CK baseia-se no "coeficiente de extinção micromolar" do NADP a 340 nm (consulte a secção "Cálculos"). As diretrizes de calibração do fabricante do instrumento devem ser seguidas para calibrar o analisador. A avaliação dos conteúdos de CK de um soro de controlo com valores de CK conhecidos pode ser utilizada para garantir que a calibração do instrumento foi realizada corretamente.

Cálculos

Os valores são calculados com base no "coeficiente de extinção micromolar da capacidade de absorção" do NADP a 340 nm (0,00622). Uma unidade por litro (U/L) de atividade de CK é a quantidade de enzimas que oxida um $\mu\text{mol/L}$ de NADP por minuto.

$$\text{U/L} = \frac{\Delta A/\text{Min}}{0,00622} \times \frac{1,05}{0,05}$$

$$\text{U/L} = \frac{\Delta A/\text{Min}}{0,00622} \times \frac{\text{Volume total}}{\text{Volume de amostra}}$$

$$\text{U/L} = \Delta A/\text{Min} \times 3376$$

Limitações

Se a $\Delta\text{Abs./min}$ for superior a 0,345, dilua 1 parte da amostra com 9 partes de solução salina e submeta novamente a ensaio. Multiplique os resultados por 10. Os valores de CK de pacientes neonatais não foram estabelecidos com este procedimento.

Controlo da qualidade

A validade da reação deve ser monitorizada utilizando soros de controlo com valores de creatina quinase normais e anormais conhecidos. Estas condições devem ser executadas, pelo menos, em cada turno de trabalho em que sejam realizados ensaios de creatina quinase. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça a sua própria frequência de determinação de controlo.

Valores esperados⁸

Intervalo de valores normal: Sexo masculino: 38-174 U/L (37°C)
Sexo feminino: 26-140 U/L (37°C)

O intervalo deve servir apenas para orientação. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça o seu próprio intervalo de valores esperados, dado que existem diferenças entre instrumentos, laboratórios e populações locais.

Características de desempenho⁹

Comparação: Um grupo de 77 soros com variação da atividade de CK entre 3 e 700 U/L foi analisado com o método de CK descrito e com um reagente de CK disponível comercialmente semelhante. A comparação dos resultados produziu um coeficiente de correlação de 0,999 e a equação de regressão foi de $y = 1,027x - 0,65$. (Foram realizados estudos de comparação de acordo com a Diretriz Provisória do NCCLS, EP9-T).

Precisão: A precisão na mesma determinação foi estabelecida por 20 ensaios em três níveis diferentes de controlos comerciais. Os valores de precisão total foram obtidos analisando 3 controlos comerciais durante 5 dias consecutivos.

Na mesma determinação	Soro 1	Soro 2	Soro 3
CK média (U/L)	159	220	508
Desvio padrão (U/L)	3,2	1,5	3,7
C.V. (%)	2,0	0,7	0,7

Precisão total	Soro 1	Soro 2	Soro 3
CK média (U/L)	50	157	228
Desvio padrão (U/L)	1,1	1,6	2,3
C.V. (%)	2,1	1,0	1,0

Foram realizados estudos de precisão de acordo com a Diretriz Provisória do NCCLS, EP5-T.

Linearidade: Linear de 1 a 1200 U/L a 37°C.⁸ Realizado de acordo com a Diretriz NCCLS EP6-P.

Sensibilidade: Com base numa resolução do instrumento de $A = 0,001$, o método apresentado demonstra uma sensibilidade de 1,0 U/L.

Bibliografia

1. Kachmar JF., Moss DW., In Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd ed. NW Tietz, Editor. WB Saunders, Philadelphia, 1976, p 682.
2. Row CR et al., J Lab Clin. Med., 80:557, 1972.
3. Szasz G., Proceedings of the Second International Symposium on Clinical Enzymology, Chicago, October 1975.
4. Rosalki S.B., J Lab Clin. Chem., 23:646, 1977.
5. Morin LG, Clin. Chem., 23:646, 1977.
6. Nealon DA, Henderson AR., Clin. Chem., 23:646, 1977.
7. Young DS et al., Clin. Chem., 21: 286D, 1975 (Special Issue).
8. Tietz, Norbert W., Clinical Guide To Laboratory Tests, W.B. Saunders Company, Philadelphia, PA., (1995), p180.
9. Dados laboratoriais do fabricante

Legenda dos símbolos

Utilizar até (AAAA-MM-DD)	Lote e código
Número de catálogo	Fabricante
Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	Limite de temperatura
Consulte as instruções de utilização	Rx Only: Utilização apenas mediante receita médica
Marcação CE	Representante autorizado na Comunidade Europeia

12-C7522-100 Fabricado por HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand 5449 Research Drive Canton, MI 48188

Fabricado por HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188
Representante Europeu Autorizado:
Obelis s.a.
Boulevard Général Wahis 53
1030 Brussels, BÉLGICA
Tel.: (32)2.732.59.54 Fax: (32)2.732.60.03 e-mail: mail@obelis.net

Certificada para executar reagentes

Os reagentes Pointe são certificados para serem fabricados de acordo com parâmetros especificados. Qualquer produto de reagente Pointe que não cumpra as especificações até à data de validade indicada será regularizado imediatamente sem quaisquer custos.