



Método UV optimizado (IFCC) para la determinación de Creatina Kinasa (CK) en suero o plasma

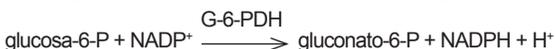
SIGNIFICACION CLINICA

La creatina kinasa (CK) es una enzima intracelular localizada en mayor proporción en músculos cardíaco y esquelético y también en cerebro. Un aumento en la actividad sérica, es por lo tanto indicio de lesión celular.

En el caso del infarto agudo de miocardio (IAM), la actividad sérica de CK comienza a aumentar entre 2 y 6 horas después de producido el episodio y alcanza un máximo después de 18 a 24 horas. Los picos alcanzados pueden llegar a ser 20 veces el límite superior normal, razón por la cual es quizás la prueba más sensible para el diagnóstico de IAM.

FUNDAMENTOS DEL METODO

Basado en el siguiente esquema reaccionante:



En la reacción interviene la N-acetilcisteína (NAC) como activador de la creatina kinasa, recomendado por la I.F.C.C.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución de buffer imidazol.

B. Reactivo B: solución de componentes conteniendo creatina fosfato y componentes reactivos en cantidades suficientes para las siguientes concentraciones finales:

imidazol	100 mmol/l; pH 6,7
creatina fosfato	30 mmol/l
ADP	2 mmol/l
glucosa	20 mmol/l
NADP	2 mmol/l
hexoquinasa	≥ 2500 U/l
glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH) ...	≥ 2000 U/l
acetato de magnesio	10 mmol/l
AMP	5 mmol/l
di-(adenosina-5') pentafofato	10 umol/l
N-acetilcisteína	20 mmol/l

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar. Estos pueden usarse separados o como **Reactivo único**, mezclando 5 partes de Reactivo A con 1 parte de Reactivo B (ej.: 5 ml Reactivo A + 1 ml Reactivo B).

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Una vez abiertos, no deben permanecer fuera del refrigerador por períodos prolongados. Evitar contaminaciones.

Reactivo único (premezclado): estable 20 días en refrigerador (2-10°C) a partir de la fecha de su preparación.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Cuando el espectrofotómetro ha sido llevado a cero con agua destilada, lecturas de absorbancia del Reactivo único > 0,800 D.O. (a 340 nm) son indicio de deterioro del mismo.

MUESTRA

Suero o plasma heparinizado

a) Recolección: se debe obtener de la manera usual.

b) Aditivos: en caso de emplear plasma, debe usarse heparina como anticoagulante.

c) Sustancias interferentes conocidas: no interfieren bilirrubina hasta 390 mg/l (39 mg/dl), triglicéridos hasta 12,5 g/l (1250 mg/dl) ni hemoglobina hasta 0,15 g/dl (150 mg/dl). Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la muestra debe ser preferentemente fresca. Puede conservarse hasta 1 semana en refrigerador (2-10°C).

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Baño de agua a la temperatura indicada en el procedimiento.
- Cronómetro.

CONDICIONES DE REACCION

(Aumento de absorbancia)

- Longitud de onda: 340 nm (Hg 334 ó 366).
- Temperatura de reacción: 25, 30 ó 37°C. Ver los VALORES DE REFERENCIA correspondientes a cada temperatura.
- Tiempo de reacción: varía de acuerdo al procedimiento seleccionado.

PROCEDIMIENTO

TECNICA CON REACTIVO UNICO

Llevar el aparato a cero con agua destilada.

A) 30 - 37°C

En una cubeta mantenida a 30-37°C, colocar:

Reactivo único	1 ml
----------------	------

Preincubar 3-4 minutos. Luego agregar:

Muestra	40 ul
---------	-------

Mezclar inmediatamente y esperar 3 minutos. Ajustar la absorbancia a una lectura de referencia disparando simultáneamente el cronómetro. Registrar la absorbancia luego de 1, 2 y 3 minutos de la primera lectura. Determinar la diferencia promedio de absorbancia/min ($\Delta A/\text{min}$), restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.

B) 25°C

Seguir el procedimiento indicado en A), pero empleando 80 ul de Muestra y esperando 4 minutos luego del agregado de la misma.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

$CK (U/l) = \Delta A/\text{min} \times x \text{ factor}$

En cada caso deberá emplearse el factor de cálculo correspondiente, como se indica en la siguiente tabla:

Temperatura	30-37°C	25°C
340 nm	4.127	2.142
334 nm	4.207	2.183
366 nm	7.429	3.856

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con actividades conocidas de creatina kinasa, con cada determinación.

VALORES DE REFERENCIA

Temperatura	25°C	30°C	37°C ^(*)
Varones	hasta 80 U/l	hasta 130 U/l	hasta 195 U/l
Mujeres	hasta 70 U/l	hasta 110 U/l	hasta 170 U/l

^(*)Calculados

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

Creatina kinasa (U/l) $\times 0,017 =$ Creatina kinasa (ukat/l)

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: se aplicó el protocolo EP15-A del CLSI. Se analizaron dos niveles de actividad, cada uno por

cuadruplicado durante 5 días. Con los datos obtenidos, se calcularon la precisión intraensayo y total.

Precisión intraensayo (n = 20)

Nivel	D.S.	C.V.
162 U/l	$\pm 1,08 \text{ U/l}$	0,66%
362 U/l	$\pm 1,61 \text{ U/l}$	0,44%

Precisión total (n = 20)

Nivel	D.S.	C.V.
163 U/l	$\pm 4,10 \text{ U/l}$	2,51%
356 U/l	$\pm 6,72 \text{ U/l}$	1,89%

b) Linealidad: normalmente, la reacción es lineal hasta un $\Delta A/\text{min}$ de 0,130 D.O. (aproximadamente 550 U/l). Para valores superiores diluir la muestra 1/2 ó 1/5 con solución fisiológica y repetir la determinación respetando las mismas condiciones de ensayo y multiplicando los resultados por la dilución efectuada. En analizadores automáticos puede observarse una linealidad de hasta 1800 U/l.

c) Sensibilidad analítica: depende del fotómetro empleado y de la longitud de onda. En espectrofotómetros a 340 nm con cubetas de caras paralelas de 1 cm de espesor, para un $\Delta A/\text{min}$ de 0,001 el mínimo cambio de actividad detectable será 8 U/l.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso.

PRESENTACION

120 ml: 5 x 20 ml Reactivo A
1 x 20 ml Reactivo B

(Cód. 1271360)

120 ml: 5 x 20 ml Reactivo A
1 x 20 ml Reactivo B

(Cód. 1009331)

120 ml: 5 x 20 ml Reactivo A
1 x 20 ml Reactivo B

(Cód. 1009251)

240 ml: 4 x 50 ml Reactivo A
2 x 20 ml Reactivo B

(Cód. 1009609)

240 ml: 4 x 50 ml Reactivo A
2 x 20 ml Reactivo B

(Cód. 1009918)*

BIBLIOGRAFIA

- 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).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCC Press, 5th ed., 2000.
- Stein, W. - Med. Welt. 36:572 (1985).
- Szasz, G.; Busch, E.W. - 3rd European Congress of Clinical Chemistry, Brighton, England, 3-8 June, 1979.
- NCCLS document "Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods", EP6-P, (1986).
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocols EP 15A, 2001 / EP 17A, 2004.

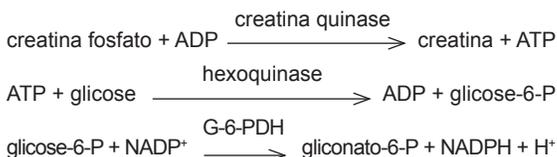
**Método UV otimizado (IFCC) para a determinação de Creatina Quinase (CK) em soro ou plasma****SIGNIFICADO CLÍNICO**

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, indício 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 de 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

A. Reagente A: solução de tampão imidazol.

B. Reagente B: solução de componentes contendo creatina fosfato e componentes reativos em 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') pentafofato	10 umol/l
N-acetilcisteína	20 mmol/l

INSTRUÇÕES PARA USO

Reagentes Fornecidos: prontos para uso. Podem-se utilizar separados ou como **Reagente único** misturando 5 partes de Reagente A com 1 parte de Reagente B (ex. 5 ml Reagente A + 1 ml Reagente B).

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.

Uma vez abertos, não devem permanecer fora do refrigerador por períodos prolongados. Evitar contaminações.

Reagente único (pré-misturado): estável por 20 dias sob refrigeração (2-10°C) a contar da data de sua preparação.

INDÍCIOS DE INSTABILIDADE OU DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES

Quando o espectrofotômetro for zerado com água destilada e as leituras de absorbância do Reagente único forem > 0,800 D.O. (a 340 nm) são indício de deterioração do mesmo.

AMOSTRA

Soro ou plasma heparinizado

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

b) Aditivos: caso de empregar plasma, deve-se utilizar heparina como anticoagulante.

c) Substâncias interferentes conhecidas: não interferem bilirrubina até 390 mg/l (39 mg/dl), triglicérides até 12,5 g/l (1250 mg/dl), nem hemoglobina até 0,15 g/dl (150 mg/dl). Referência bibliográfica Young à efeitos de drogas neste método.

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

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro.
- Micropipetas e pipetas capazes de medir os volumes indicados.
- Banho-maria à temperatura indicada no procedimento.
- Cronômetro.

CONDIÇÕES DE REAÇÃO

(Aumento de absorbância)

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

PROCEDIMENTO

TÉCNICA COM REAGENTE ÚNICO

Zerar o aparelho com água destilada.

A) 30 - 37°C

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

Reagente único	1 ml
----------------	------

Preincubar 3-4 minutos, e depois adicionar:

Amostra	40 ul
---------	-------

Misturar imediatamente e esperar 3 minutos. Ajustar a absorbância a uma leitura 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 cada leitura da anterior e tirando a média destes valores. Utilizar esta média para os cálculos.

B) 25°C

Seguir o procedimento indicado em A), mais empregando 80 ul de Amostra e esperando 4 minutos depois do acréscimo da mesma.

por quadruplicado durante 5 dias. Com os dados obtidos, calcularam-se as precisões intra-ensaio e total.

Precisão intra-ensaio (n = 20)

Nível	D.P.	C.V.
162 U/l	± 1,08 U/l	0,66 %
362 U/l	± 1,61 U/l	0,44 %

Precisão total (n = 20)

Nível	D.P.	C.V.
163 U/l	± 4,10 U/l	2,51 %
356 U/l	± 6,72 U/l	1,89 %

b) Linearidade: normalmente, a reação é linear até um $\Delta A/\text{min}$ de 0,130 D.O. (aproximadamente 550 U/l). Para valores superiores, diluir a amostra 1/2 ou 1/5 com solução fisiológica e repetir a determinação, respeitando as mesmas condições de ensaio e multiplicando os resultados pela diluição efetuada. Em analisadores automáticos pode-se observar uma linearidade até 1800 U/l.

c) Sensibilidade analítica: depende do fotômetro empregado e da comprimento de onda. Em espectrofotômetros a 340 nm com cubas de fases 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.

PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

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

APRESENTAÇÃO

120 ml: 5 x 20 ml Reagente A
1 x 20 ml Reagente B
(Cód. 1271360)

120 ml: 5 x 20 ml Reagente A
1 x 20 ml Reagente B
(Cód. 1009331)

120 ml: 5 x 20 ml Reagente A
1 x 20 ml Reagente B
(Cód. 1009251)

240 ml: 4 x 50 ml Reagente A
2 x 20 ml Reagente B
(Cód. 1009609)

240 ml: 4 x 50 ml Reagente A
2 x 20 ml Reagente B
(Cód. 1009918)*

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).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCC Press, 5th ed., 2000.
- Stein, W. - Med. Welt. 36:572 (1985).
- Szasz, G.; Busch, E.W. - 3rd European Congress of Clinical Chemistry, Brighton, England, 3-8 June, 1979.
- NCCLS document "Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods", EP6-P, (1986).
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocols EP 15A, 2001 / EP 17A, 2004.

CÁLCULO DOS RESULTADOS

CK (U/l) = $\Delta A/\text{min}$ x fator

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

Temperatura	30-37°C	25°C
Long. onda		
340 nm	4.127	2.142
334 nm	4.207	2.183
366 nm	7.429	3.856

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 os seus próprios valores de referência.

CONVERSÃO DE UNIDADES AO SISTEMA SI

Creatina quinase (U/l) x 0,017 = Creatina quinase (ukat/l)

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA.

DESEMPENHO

a) Reprodutibilidade: aplicando o protocolo EP-15A do CLSI, analisaram-se dois níveis de atividade, cada um



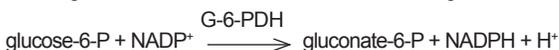
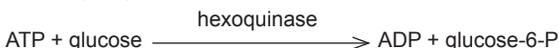
Optimized UV method (IFCC) for the determination of
Creatine Kinase (CK) in serum or plasma

SUMMARY

Creatine Kinase (CK) is an intracellular enzyme mostly found in skeletal and heart muscles, as well as in brain. Therefore, an increase in serum activity indicates cellular damage. In Acute Myocardial Infarction (AMI), the increase of CK serum activity starts 2 to 6 hours after the onset and reaches its peak after 18 to 24 hours. Since peaks may be 20 times the highest peak increase, this is perhaps the most sensitive test for AMI diagnosis.

PRINCIPLE

The reaction system is as follows:



In the reaction system, N-Acetyl-cysteine (NAC) works as activator of the Creatine Kinase, recommended by the IFCC.

PROVIDED REAGENTS

A. Reagent A: imidazole buffer solution.

B. Reagent B: compound solution containing creatine phosphate and reactive components in the required quantities for the following final concentrations:

Imidazole	100 mmol/l; pH 6.7
Creatine phosphate	30 mmol/l
ADP	2 mmol/l
Glucose	20 mmol/l
NADP	2 mmol/l
Hexokinase	≥ 2500 U/l
Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH)	≥ 2000 U/l
Magnesium acetate	10 mmol/l
AMP	5 mmol/l
Di (adenosine-5') pentaphosphate	10 μmol/l
N-Acetyl-cysteine	20 mmol/l

INSTRUCTIONS FOR USE

Provided Reagents: ready to use. These may be used separately as monoreagent, mixing 5 parts Reagent A with 1 part Reagent B (e.g.: 5 ml Reagent A + 1 ml Reagent B).

WARNINGS

Reagents are for "in vitro" diagnostic use. Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories.

The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

Provided Reagents: stable at 2-10°C until the expiration date stated on the box.

Once opened, they should not be maintained out of the refrigerator for extended periods of time. Avoid contamination.

(Premixed) Monoreagent: stable at 2-10°C for up to 20 days from preparation date.

INSTABILITY OR DETERIORATION OF REAGENTS

When the spectrophotometer has been set to zero with distilled water, absorbance readings of the Monoreagent higher than 0.800 O.D. (at 340 nm) indicate its deterioration.

SAMPLE

Serum or heparinized plasma

a) Collection: obtain in the usual way.

b) Additives: heparin as anticoagulant.

c) Known interfering substances: no interferences have been observed from bilirubin up to 390 mg/l (39 mg/dl), triglycerides up to 12.5 g/l (1250 mg/dl), nor hemoglobin up to 0.15 g/dl (150 mg/dl).

See Young, D.S. under References for effect of drugs on the present method.

d) Stability and storage instructions: sample should be preferably fresh. It can be kept up to 1 week at 2-10°C.

REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Spectrophotometer.
- Micropipettes and pipettes for measuring the stated volumes.
- Water bath at the temperature indicated under PROCEDURE.
- Stopwatch.

ASSAY CONDITIONS

(Increase of Absorbance)

- Wavelength: 340 nm (Hg 334 or 366)
- Reaction temperature: 25, 30 or 37°C. See the REFERENCE VALUES corresponding to each temperature.
- Reaction time: varies according to the selected procedure.

PROCEDURE

MONOREAGENT TECHNIQUE

Set instruments to zero with distilled water.

A) 30 - 37°C

In a cuvette at 30-37°C, place:

Monoreagent	1 ml
--------------------	------

Pre-incubate 3-4 minutes. Then add:

Sample	40 ul
---------------	-------

Mix immediately and wait 3 minutes. Adjust absorbance to a reference reading and simultaneously start stopwatch. Record absorbance 1, 2 and 3 minutes after first reading. Determine average change in Absorbance/min ($\Delta A/\text{min}$), subtracting each reading from the previous one and averaging these values. Use this mean for calculations.

B) 25°C

Follow the procedure indicated A) procedure but using 80 ul Sample and waiting for 4 minutes after the addition.

Intra-assay precision (n = 20)

Level	S.D.	C.V.
162 U/l	± 1.08 U/l	0.66 %
362 U/l	± 1.61 U/l	0.44 %

Total precision (n = 20)

Level	S.D.	C.V.
163 U/l	± 4.10 U/l	2.51 %
356 U/l	± 6.72 U/l	1.89 %

b) Linearity: usually, the reaction is linear up to 0.130 O.D. $\Delta A/\text{min}$ (approximately 550 U/l). For higher values, dilute the sample in 1:2 or 1:5 with saline solution and repeat the determination observing the same assay conditions and multiplying the obtained result by the dilution performed. In autoanalyzers, linearity up to 1800 U/l may be observed.

c) Analytical sensitivity: depends on the photometer used and wavelength. In spectrophotometer at 340 nm with 1 cm optical length square cuvettes, for $\Delta A/\text{min}$ of 0.001, the minimum detectable activity change will be of 8 U/l.

PARAMETERS FOR AUTOANALYZERS

For programming instructions check the user manual of the autoanalyzer in use.

WIENER LAB. PROVIDES

120 ml: 5 x 20 ml Reagent A
1 x 20 ml Reagent B
(Cat. 1271360)

120 ml: 5 x 20 ml Reagent A
1 x 20 ml Reagent B
(Cat. 1009331)

120 ml: 5 x 20 ml Reagent A
1 x 20 ml Reagent B
(Cat. 1009251)

240 ml: 4 x 50 ml Reagent A
2 x 20 ml Reagent B
(Cat. 1009609)

240 ml: 4 x 50 ml Reagent A
2 x 20 ml Reagent B
(Cat. 1009918)*

REFERENCES

- 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).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000.
- Stein, W. - Med. Welt. 36:572 (1985).
- Szasz, G.; Busch, E.W. - 3rd European Congress of Clinical Chemistry, Brighton, England, 3-8 June, 1979.
- NCCLS document "Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods", EP6-P, (1986).
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocols EP 15A, 2001 / EP 17A, 2004.

CALCULATIONS

CK (U/l) = $\Delta A/\text{min}$ x factor

In each case the corresponding calculation factor should be used, as shown on the table below:

Temperature \ Wavelength	30-37°C	25°C
340 nm	4,127	2,142
334 nm	4,207	2,183
366 nm	7,429	3,856

QUALITY CONTROL METHOD

Each time the test is running, analyze two levels of a quality control material (**Standatrol S-E 2 niveles**) with known creatine kinase activity.

REFERENCE VALUES

Temperature	25°C	30°C	37°C ⁽¹⁾
Men	up to 80 U/l	up to 130 U/l	up to 195 U/l
Women	up to 70 U/l	up to 110 U/l	up to 170 U/l

⁽¹⁾Calculated

It is recommended that each laboratory establishes its own reference values.

SI SYSTEM UNITS CONVERSION

Creatine kinase (U/l) x 0.017 = Creatine kinase (ukat/l)

PROCEDURE LIMITATIONS

See Known Interfering Substances under SAMPLE.

PERFORMANCE

a) Reproducibility: CLSI's protocol EP15-A was applied. Two activity levels were analyzed in replicates of four, during 5 days. With the obtained results total and intra-assay precision were calculated.



CK-NAC



AA

Zoptymalizowana metoda UV (IFCC) dla oznaczania
kinazy kreatyninowej (CK) w surowicy lub osoczu

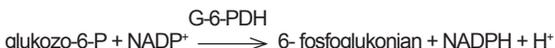
Nr kat. 1271360 Nr kat. 1009609
Nr kat. 1009251 Nr kat. 1009918
Nr kat. 1009331

WSTĘP

Kinaza kreatynowa (CK) jest enzymem wewnątrzkomórkowym znajdującym się głównie w mięśniach szkieletowych i mięśniu sercowym, jak również w mózgu. Stąd wzrost poziomu aktywności w surowicy wskazuje na uszkodzenie komórek w ostrym zawałe mięśnia serca. Wzrost surowiczej aktywności CK rozpoczyna się od 2-6 godzin po incydencie i osiąga poziom szczytowy po 18-24 godzinach. Szczytowy poziom jest prawdopodobnie najczulszym wskaźnikiem ostrego zawału mięśnia serca ze względu na 20-krotny wzrost poziomu enzymu w surowicy krwi.

ZASADA DZIAŁANIA

Układ reakcji jest następujący:



W układzie reakcji zgodnie z zaleceniami IFCC N-acetylocysteina (NAC) działa jako aktywator kinazy kreatyniny.

DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

A. Odczynnik A: roztwór buforu imidazolowego.

B. Odczynnik B: złożony roztwór zawierający fosforan kreatyniny i reagujące składniki w wymaganej ilości do otrzymania końcowych stężeń reakcji:

Imidazol	100 mmol/l; pH 6,7
fosforan kreatyniny	30 mmol/l
ADP	2 mmol/l
Glukoza	20 mmol/l
NADP	2 mmol/l
Heksokinaza (HK)	≥ 500 U/l
dehydrogenaza glukoza-6-fosforanu (G-6-PDH)	≥ 2 000 U/l
Octan magnezu	10 mmol/l
AMP	5 mmol/l
dwu (adenozyno-5')-pentozofosforan	10 umol/l
N-acetylo-cysteina (NAC)	20 mmol/l

INSTRUKCJA UŻYCIA

Dostarczane odczynniki: gotowe do zastosowania. Mogą być użyte samodzielnie lub jako Monoodczynnik, rozpuszczając 5 części Odczynnika A z 1 częścią odczynnika B (np. 5 ml Odczynnika A + 1 ml Odczynnika B).

OSTRZEŻENIA

Odczynniki wyłącznie do użycia in vitro.

Stosować odczynniki zgodnie z procedurami dla laboratoriów klinicznych.

Odczynniki i materiały badane powinny być odrzucone zgodnie z lokalnymi przepisami.

TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Dostarczone odczynniki: trwałe w lodówce w temperaturze 2-10°C do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu. Po otwarciu nie powinny przebywać zbyt długo poza lodówką. Unikać zanieczyszczenia.

Monoodczynnik (uprzednio przygotowany): trwały w lodówce w temperaturze 2-10°C przez 20 dni od daty przygotowania.

BRAK TRWAŁOŚCI I POGORSZENIE JAKOŚCI ODCZYNNIKÓW

Spektrofotometr ustawiony na zero przy wodzie destylowanej wskazujący absorbancję rozpuszczonego Monoodzynnika powyżej 0,800 O.D. (przy 340 nm) wskazuje na pogorszenie jakości.

MATERIAŁ BADANY

Surowica lub osocze

a) Pobranie: otrzymać w klasyczny sposób.

b) Substancje dodatkowe: heparyna jako antykoagulant.

c) Znane interakcje: nie obserwowano żadnych interakcji z bilirubiną do 390 mg/l (39 mg/dl) oraz trójglicerydami do 12,5 g/l (1250 mg/dl) oraz z hemoglobiną do 0,15 g/dl (150 mg/dl). Sprawdź źródło: Young, D.S. w sprawie wpływu leków w tej metodzie

d) Trwałość i instrukcja przechowywania: materiał powinien być świeży. Może być przechowywany do 1 tygodnia w temp. 2-10°C.

WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT (niedostarczany)

- Spektrofotometer.
- Mikropipety i pipety do pomiaru objętości.
- Łaźnia wodna o temperaturze wskazanej w PROCEDURZE.
- Stoper.

WARUNKI DLA PRZEPROWADZENIA TESTU

- Długość fali: 340 nm (Hg 334 lub 366).
- temperatura reakcji: 25, 30 lub 37°C. Patrz WARTOŚCI REFERENCYJNE odpowiadające danej temperaturze.
- Czas reakcji: w zależności od wybranej procedury.

PROCEDURA

TECHNIKA MONOODCZYNNIKA

Ustawić aparat na zero O.D. na wodzie destylowanej.

A) 30-37°C

W kuwecie w temp. 30-37°C umieścić:

Monoodczynnik	1 ml
----------------------	------

Preinkubować przez 3-4 min a następnie dodać:

Materiał	40 ul
-----------------	-------

Zmieszać natychmiast i odczekać 3 min. Ustawić absorbancję na właściwy odczyt i równocześnie włączyć stoper. Dokonać pomiaru absorbancji w 1., 2. i 3. Min po pierwszym odczytu. Określić średnią zmianę absorbancji Absorbancja/min ($\Delta A/\text{min}$), odejmując każdy odczyt od poprzedniego i wyciągając średnie wartości. Użyć tej średniej do obliczeń.

B) 25°C

Postępować jak wskazano w procedurze A) z użyciem 80 ul Materiału badanego. Po dodaniu należy odczekać 4 min.

OBLICZENIA

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

W każdym przypadku powinien być podstawiony odpowiedni współczynnik zgodnie z tabelą:

Temperatura Długość fali	30-37°C	25°C
340 nm	4127	2142
334 nm	4207	2183
366 nm	7429	3856

METODA KONTROLI JAKOŚCI

Za każdym razem gdy przeprowadzane jest badanie należy przeprowadzić próbę kontroli jakości na dwóch poziomach z materiałem (**Standatrol S-E 2 niveles**) przy znanym poziomie aktywności CK-MB.

WARTOŚCI REFERENCYJNE

Temperatura	25°C	30°C	37°C ^(*)
Mężczyźni	do 80 U/l	do 130 U/l	do 195 U/l
Kobiety	do 70 U/l	do 110 U/l	do 170 U/l

^(*) Wartości obliczone

Zaleca się dla każdego laboratorium oznaczenie własnych wartości referencyjnych.

KONWERSJA JEDNOSTEK SI

Kinaza kreatyniny (U/l) \times 0,017 = Kinaza kreatyniny (ukat/l)

OGRANICZENIA PROCEDURY

Zobacz znane interakcje w rozdziale MATERIAŁ.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

a) **Powtarzalność:** wykonano zgodnie z protokołem EP15-A CLSI. Przeanalizowano dwa poziomy aktywności w czterech

powtórzeniach, w ciągu 5 dni. Na podstawie otrzymanych wyników obliczono następujące wartości dokładności całkowitej i w trakcie badania:

Dokładność w trakcie badania (n =20)

Poziom	S.D.	C.V.
162 U/l	$\pm 1,08\ U/l$	0,66%
362 U/l	$\pm 1.61\ U/l$	0,44%

Dokładność całkowita (n =20)

Poziom	S.D.	C.V.
163 U/l	$\pm 4,10\ U/l$	2,51%
356 U/l	$\pm 6,72\ U/l$	1,89%

b) **Linijność:** reakcja jest linijna do poziomu 0,130 O.D. $\Delta A/\text{min}$ (ok. 550 U/l). Dla wyższych wartości należy rozcieńczyć materiał solą fizjologiczną 1:2 lub 1:5 a następnie wykonać ponownie oznaczenie w tych samych warunkach i pomnożyć wyniki o ilość rozcieńczeń. W analizatorach automatycznych linijność reakcji może być obserwowana do 1800 U/l.

c) **Czułość analityczna:** zależy od zastosowanego spektrofotometru i długości fali. W spektrofotometrze o długości fali 340 nm z kuwetą kwadratową o długości optycznej 1 cm, przy $\Delta A/\text{min}$ 0,001 najmniejsza oznaczalna zmiana aktywności wynosi 8 U/l.

PARAMETRY DLA ANALIZATORÓW AUTOMATYCZNYCH

Należy zapoznać się z instrukcją obsługi celem programowania danego analizatora automatycznego.

WIENER LAB. DOSTARCZA

120 ml: 5 x 20 ml Odczynnik A
1 x 20 ml Odczynnik B
(Nr kat. 1271360)

120 ml: 5 x 20 ml Odczynnik A
1 x 20 ml Odczynnik B
(Nr kat. 1009331)

120 ml: 5 x 20 ml Odczynnik A
1 x 20 ml Odczynnik B
(Nr kat. 1009251)

240 ml: 4 x 50 ml Odczynnik A
2 x 20 ml Odczynnik B
(Nr kat. 1009609)

240 ml: 4 x 50 ml Odczynnik A
2 x 20 ml Odczynnik B
(Nr kat. 1009918)

ŹRÓDŁA

- 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).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCPress, 5th ed., 2000.
- Stein, W. - Med. Welt. 36:572 (1985).
- Szasz, G.; Busch, E.W. - 3rd European Congress of Clinical Chemistry, Brighton, England, 3-8 June, 1979.
- NCCLS document "Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods", EP6-P, (1986).
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocols EP 15A, 2001 / EP 17A, 2004.

SÍMBOLOS // SÍMBOLOS // SYMBOLS // OZNACZENIA

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab. // Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab. // The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits. // Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.

 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro" // Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro" // This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices // Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea // Representante autorizado na Comunidade Europeia // Authorized representative in the European Community // Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej

 Uso diagnóstico "in vitro" // Uso médico-diagnóstico "in vitro" // "In vitro" diagnostic medical device // Wyrób do diagnostyki "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos // Conteúdo suficiente para <n> testes // Contains sufficient for <n> tests // Zawartość wystarczająca dla <n> badań

 Fecha de caducidad // Data de validade // Use by // Użyć przed

 Límite de temperatura (conservar a) // Limite de temperatura (conservar a) // Temperature limitation (store at) // Ograniczenie dopuszczalnej temperatur

 No congelar // Não congelar // Do not freeze // Nie zamrażać

 Riesgo biológico // Risco biológico // Biological risks // Ryzyko biologiczne

 Volumen después de la reconstitución // Volume após a reconstituição // Volume after reconstitution // Objętość po rozpuszczeniu

 Contenido // Conteúdo // Contents // Zawartość

 Número de lote // Número de lote // Batch code // numer serii

 Elaborado por // Elaborado por // Manufactured by // Wytwórca

 Nocivo // Nocivo // Harmful // Substancja szkodliwa

 Corrosivo / Cáustico // Corrosivo / Caústico // Corrosive / Caustic // Substancja żrąca

 Irritante // Irritante // Irritant // Substancja drażniąca

 Consultar instrucciones de uso // Consultar as instruções de uso // Consult instructions for use // Przed użyciem zapoznać się z instrukcją

 Calibrador // Calibrador // Calibrator // Kalibrator

 Control // Controle // Control // Próba kontrolna

 Control Positivo // Controle Positivo // Positive Control // Próba kontrolna dodatnia

 Control Negativo // Controle Negativo // Negative Control // Próba kontrolna ujemna

 Número de catálogo // Número de catálogo // Catalog number // Numer katalogowy

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Cert. N°: 4967/04



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina