



### Finalidade

Método UV otimizado para a determinação de Creatina Quinase (CPK) em soro ou plasma.

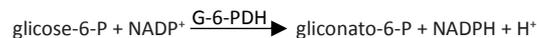
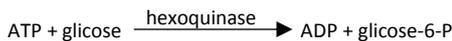
### Significado Clínico

A CPK está envolvida no metabolismo de alta energia. Está presente como um dímero e é encontrada em dois tipos de subunidades – M e B. Portanto, há três formas de isoenzimas possíveis – MM, MB e BB. CK-MM é a forma do músculo esquelético e responsável pelo aumento observado em lesões musculares generalizadas, tais como rabdomiólise ou trombose ilíaca no gato. A atividade total de CPK pode ter um aumento exorbitante em casos graves. Entretanto, é importante observar que dois dias em decúbito sobre uma grande massa muscular por si só aumenta a CPK até 3000 U/L em um animal de grande porte deitado. Clinicamente, o esforço muscular e injeções intramusculares também produzem um aumento discreto a moderado na atividade plasmática de CK-MM.

Uma atividade de CPK total ligeiramente elevada é típica de hipotireoidismo, pois o catabolismo da CPK é aparentemente promovido pela tiroxina. Geralmente, a mensuração da CPK total reflete a isoenzima MM, que é a mais abundante.

### Fundamento do método

Baseado no seguinte esquema de reação:



No esquema de reações intervém a N-acetilcisteína (NAC) como ativador da creatina quinase.

### 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') pentafofosfato.....	10 umol/L
N-acetilcisteína.....	20 mmol/L

### Instruções de Uso

**Reagentes Fornecidos:** prontos para uso. Podem ser utilizados separadamente 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* veterinário. Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas. Todos os reagentes e amostras devem ser descartados conforme a legislação 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 absorvância do Reagente único forem > 0,800 D.O. (a 340 nm) são indício de deterioração.

### Amostra

Soro ou plasma heparinizado.

- Coleta: deve ser realizada de forma habitual.
- Aditivos: caso seja utilizado o plasma como amostra, utilizar heparina como anticoagulante.
- Estabilidade e instruções de armazenamento: a amostra deve ser preferencialmente recém coletada. Pode ser conservada por até 7 dias entre 2-10°C.

### Interferências

Não interferem bilirrubina até 39 mg/dL, triglicerídeos até 1250 mg/dL e hemoglobina até 0,15 g/dL (150 mg/dL).

### Material necessário (não fornecido)

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

### Condições da reação

(Aumento de absorvância)

- Comprimento de onda: 340 nm
- Temperatura de reação: 37°C

Os volumes de Amostra e Reagente podem mudar proporcionalmente sem que variem os fatores de cálculo.

### Procedimento

#### 1 - Técnica com reagente único

Zerar o aparelho com água destilada.

Em uma cubeta mantida a 37°C, colocar:

Reagente único	1,0 mL
Pré-incubar por 3 a 4 minutos. Após, acrescentar:	
Amostra	40 µL

Misturar imediatamente e esperar 3 minutos. Ajustar a absorvância a uma leitura de referência e disparar simultaneamente o cronômetro. Registrar a absorvância depois de 1, 2 e 3 minutos da primeira leitura. Determinar a diferença média de absorvância/min ( $\Delta A/\text{min}$ ), subtraindo cada leitura da anterior e calculando a média destes valores. Utilizar esta média para os cálculos.

### Cálculo dos Resultados

$\text{CPK (U/L)} = \Delta A/\text{min} \times \text{fator}$

Fator = 4127

Exemplo:

(Os dados apresentados a seguir são ilustrativos)

	Amostra	Diferença	Média
Absorvância A1	0,289		
Absorvância A2	0,324	0,035	
Absorvância A3	0,358	0,034	
Absorvância A4	0,395	0,037	0,035

Utilizando Fator teórico:

$\text{CPK (U/L)} = 0,035 \times 4127 = 144 \text{ U/L}$

Caso seja utilizado o calibrador **Laborcal Vet:**

Concentração de CPK no calibrador: 329 U/L

	Calibrador	Diferença	Média
Absorvância A1	0,247		

Absorbância A2	0,329	0,082	
Absorbância A3	0,409	0,080	
Absorbância A4	0,488	0,079	0,080

Obtenção do fator de calibração:

$$\text{Fator} = \frac{[\text{CPK calibrador}]}{\Delta A/\text{min calibrador}} = \frac{329 \text{ U/L}}{0,080} = 4112$$

$$\text{CPK (U/L)} = \Delta A/\text{min Amostra} \times \text{Fator} = 0,035 \times 4112 = 144 \text{ U/L}$$

#### Método de Controle de Qualidade

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (Laborcontrol Vet 1 e 2) com atividades conhecidas de creatina quinase, com cada determinação.

#### Valores de Referência

##### Espécie (U/L)

Canina	1,15 – 28,4
Felina	7,2 – 28,2
Bovino	4,8 – 12,1
Equina	2,4 – 23,4

Os valores de referência devem ser usados apenas como orientação. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça, na população de animais atendida, seus próprios valores de referência.

#### Limitações do procedimento

Vide "Interferências".

#### Desempenho

- a) Reprodutibilidade: processando 20 determinações simultaneamente de uma amostra canina e outra equina com valores dentro do intervalo de referência, obteve-se o seguinte:

Amostra Canina:

Concentração	D.P.	C.V.
265,4	4,18	1,57
15,3	1,01	6,60

Amostra Equina

Concentração	D.P.	C.V.
93,5	3,65	3,90
441	4,81	1,09

- 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 do comprimento de onda. Em espectrofotômetros a 340 nm com cubas de faces 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

1 x 50 mL Reagente A

1 x 10 mL Reagente B

(Cód. 1774074)

#### Referências

- 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).
- 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.
- Thrall, M. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária 2 ed. Guanabara koogan: Rio de Janeiro, 2015.
- González, F. H. D.; SILVA, S. C. Introdução a bioquímica clínica veterinária. Porto Alegre: UFRGS, 2003.
- Kerr, Morag G. Exames Laboratoriais em Medicina Veterinária 2ª ed., Roca: São Paulo, 2003.

#### SÍMBOLOS

	Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"
	Representante autorizado na Comunidade Europeia
	Uso médico-diagnóstico "in vitro"
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data de validade
	Limite de temperatura (conservar a)
	Não congelar
	Risco biológico
	Volume após da reconstituição
	Conteúdo
	Número de lote
	Elaborado por:
	Nocivo
	Corrosivo / Caústico
	Irritante
	Consultar as instruções de uso
	Calibrador
	Controle
	Controle Positivo
	Controle Negativo
	Número de catálogo

#### Termo de garantia

Este Kit como um todo tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Departamento Técnico da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda. que não houve falhas técnicas na execução e manuseio deste kit, assim como em sua conservação.

 Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda.  
Estrada do Capão Bonito, 489  
Guarulhos/SP – Brasil – CEP: 07263-010  
CNPJ: 72.807.043/0001-94  
Atendimento ao cliente:  
+55(11) 2480-0529/+55(11) 2499-1277  
[sac@laborlab.com.br](mailto:sac@laborlab.com.br)  
[www.laborlab.com.br](http://www.laborlab.com.br)

Revisão 00  
Maio, 2020