

Uso previsto

Determinazione quantitativa dell'attività della creatinichinasi nel siero, utilizzando gli analizzatori Yumizen C230 e Yumizen C240. **Solo su prescrizione.**

Riassunto e principi base del metodo

La misurazione dei livelli sierici di creatinichinasi (CK) si è dimostrata fondamentale per la valutazione di malattie a carico del cuore e dei muscoli scheletrici, come l'infarto del miocardio e la distrofia muscolare.¹ La misurazione degli isoenzimi della creatinichinasi e della lattato deidrogenasi fornisce una diagnosi definitiva per l'infarto miocardico acuto.²

La procedura cinetica qui presentata è una modifica della tecnica di Szasz³ e Rosalki⁴, con un'ottimizzazione della reazione ottenuta riattivando la CK mediante N-acetil-L-cisteina (NAC).

La CK catalizza specificamente la transfosforilazione di ADP in ATP. Attraverso una serie di reazioni enzimatiche accoppiate, si produce NADPH a una velocità direttamente proporzionale all'attività della CK. Il metodo rileva l'aumento dell'assorbimento del NADPH al minuto a 340 nm.

Reagenti

Il CK R1 (tamponi) contiene: tampone imidazolo (pH 6,7) 100,0 mmol/L; NADP 2,0 mmol/L; HK (lievito di Baker) 2,5 KU/L; glucosio 20,0 mmol/L; magnesio acetato 10,0 mmol/L; EDTA 2,0 mmol/L e N-acetilcisteina (NAC) 20,0 mmol/L.

Il CK R2 (reagente enzimatico) contiene: tampone imidazolo (pH 6,7) 100,0 mmol/L; ADP 2,0 mmol/L; AMP 5,0 mmol/L; diadenosina pentafosfato 10,0 mmol/L; creatina fosfato 30,0 mmol/L; G6PDH (lievito di Baker) 1,5 KU/L e EDTA 2,0 mmol/L.

Preparazione dei reagenti

I reagenti vengono forniti sotto forma di liquido pronto all'uso.

Conservazione dei reagenti

- I reagenti devono avere un aspetto limpido e incolore. Non utilizzare se uno dei due appare torbido o contenente particolato.
- Conservare i reagenti R1 e R2 a 2-8°C, al riparo dalla luce. Se conservati secondo le istruzioni, i reagenti restano stabili fino alla data di scadenza.

Precauzioni

- Il reagente è destinato esclusivamente a fini diagnostici *in vitro*.
- Adottare le normali precauzioni per la manipolazione dei reagenti di laboratorio.
- I reagenti contengono sodio azide, sostanza tossica se ingerita. Il sodio azide anche reagire con il piombo e il rame delle tubature e formare un complesso metallo-azide altamente esplosivo. Per informazioni aggiornate su rischi, pericoli e sicurezza, consultare la relativa Scheda di sicurezza.

Raccolta e manipolazione dei campioni

- I campioni devono preferibilmente contenere siero limpido non emolizzato. Non sono necessari additivi o conservanti speciali.
- Se possibile, i campioni vanno separati e analizzati il giorno del prelievo e conservati in provette chiuse.
- Si è osservato che a 2-8°C, l'attività della CK nel siero resta stabile per tre giorni. In caso di conservazione prolungata, per preservare l'attività della CK vengono aggiunti agenti solfidrilici.^{5,6} Tuttavia, alcuni sieri di controllo mostrano una notevole diminuzione dell'attività della CK solo poche ore dopo la ricostituzione.

Interferenze

- Iniezioni intramuscolari e un intenso esercizio fisico possono far aumentare la CK sierica.
- Cloruri e solfati inibiscono l'attività della CK.
- Si è osservato che livelli di bilirubina fino a 40 mg/dl e livelli di trigliceridi fino a 2000 mg/dl non interferiscono con questo esame.⁹
- Young, et al. ha esaminato gli effetti di vari farmaci sui livelli sierici di CK.⁷

Materiali in dotazione

Reagenti R1 e R2 per CK.

Materiali necessari non in dotazione

- Analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240
- Manuale utente per gli analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240
- Controllo chimico, numero di catalogo C7592-100

Parametri di analisi

Analisi:	CK	Sostanza chim.:	Creatinichinasi
N. chim.:	211	N. etichetta:	CK
Tipo reazione:	cinetica	Direzione reazione:	positiva
Lungh. d'onda prim.:	340 nm	Lungh. d'onda sec.:	405 n
Decimale:	0	Tipo campione:	siero
T. bianco:		T. reazione:	3 11
Unità:	U/L	T. incubazione:	3

	Vol. campione	Aspirato	Diluyente	Vol. reagente	Diluyente
Standard:	5	ul	ul	R1: 180	ul
Decremento:	5	ul	20	ul	180
Incremento:		ul	ul	ul	ul

Intervallo linearità (standard):	1-1200	Limite linearità:	0.3		
Intervallo linearità (decremento):		Esaurim. substrato:	25,000		
Intervallo linearità (incremento):		Assorb. bianco mix:	- 40000 40000		
Assorb. bianco R1:	- 40000	40000	Stabilità in macchina:	30	Giorno/i
Risposta bianco	- 40000	40000	Limite allarme reagente:	5	
Doppia chim.:					

Controllo eff. prozona:			
Q1:	Q2:	Q3:	
Q4:	PC:	ABS:	

Risultato qualitativo:		
Intervallo:		Val. fuori norma:

Pendenza Offset:			
Pendenza	1	Offset	0
Unità	U/L		

Tratt. preliminare:			
Vol. campione pretratt.:	ul	Vol. reagente pretratt.:	ul

Intervallo rif.:					
Tipo campione:	Sesso:	Intervallo età:	Intervallo rif.:	Intervallo critico:	Unità:

Parametri di configurazione della calibrazione

Analisi chim.	CK			
Impostazioni calibr.				
Modello mat.:	Fattore K			
Fattore:	6158.000			
Repliche:	2			
Limiti accettabilità				
T. calibr.:	24	h		
Diff. pendenza:		DS:		
Sensibilità:		Ripetibilità:		*Def. utente
Coeff. deter.:				
Calibr. autom.		T. calibr.		

Calibratore	Conc.	Pos.	N. lotto:
acqua	0,0	W	

Kit di reagenti Creatinichinasi Pointe

Calibrazione

L'attività della CK si basa sul "coefficiente di estinzione micromolare" del NADP a 340 nm (v. "Calcoli"). Per calibrare l'analizzatore è necessario seguire le istruzioni del produttore dello strumento. Per assicurarsi di aver eseguito correttamente la calibrazione dello strumento, si può analizzare il contenuto di CK in un siero di controllo con valori di CK noti.

Calcoli

I valori sono ricavati in base al "coefficiente di estinzione micromolare di assorbimento" del NADP a 340 nm (0,00622). Un'unità per litro (U/L) di CK è la quantità di enzima che ossida un $\mu\text{mol/L}$ di NADP al minuto.

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

$$\text{U/L} = \frac{\Delta A/\text{Min}}{0,00622} \times \frac{\text{Volume totale}}{\text{Volume del campione}}$$

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

Limitazioni

Se il $\Delta\text{abs./min}$ è superiore a 0,345, diluire 1 parte di campione con 9 parti di soluzione fisiologica e ripetere il test. Moltiplicare i risultati per 10. Con questa procedura non si analizzano i valori di CK in pazienti neonatali.

Controllo qualità

La bontà della reazione va monitorata utilizzando sieri di controllo con valori normali e patologici noti di creatinichinasi. I controlli vanno eseguiti in ogni turno in cui si effettuano analisi della creatinichinasi. Si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca la frequenza interna dei controlli.

Valori attesi ⁸

Intervallo nella norma: Uomini: 38-174 U/L (37°C)
Donne: 26-140 U/L (37°C)

I valori indicati servono solo come indicazione di massima. Poiché esistono differenze tra strumenti, laboratori e popolazioni locali, si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca il proprio intervallo di riferimento.

Caratteristiche delle prestazioni⁹

Comparazione: Un gruppo di 77 campioni sierici con CK compresa tra 3 e 700 U/L è stato analizzato con il metodo descritto e con un analogo reagente per CK disponibile in commercio. Dal confronto dei risultati risulta un coefficiente di correlazione pari a 0,999 e un'equazione di regressione $y = 1,027x - 0,65$. (Gli studi di comparazione sono stati eseguiti in conformità con la linea guida provvisoria EP9-T del NCCLS).

Precisione: La precisione intrasaggio è stata rilevata eseguendo 20 esami su tre diversi livelli di controlli reperibili in commercio. I valori per la precisione totale sono stati ottenuti analizzando 3 controlli commerciali per 5 giorni consecutivi.

Intrasaggio	Siero 1	Siero 2	Siero 3
CK media (U/L)	159	220	508
Deviazione std. (U/L)	3,2	1,5	3,7
C.V. (%)	2,0	0,7	0,7

Precisione tot.	Siero 1	Siero 2	Siero 3
CK media (U/L)	50	157	228
Deviazione std. (U/L)	1,1	1,6	2,3
C.V. (%)	2,1	1,0	1,0

Gli studi sulla precisione sono stati eseguiti in conformità con la linea guida provvisoria EP5-T del NCCLS.










Linearità: Lineare da 1 a 1200 U/L a 37°C⁸ in test eseguiti in conformità con le linee guida EP6-P dell'istituto NCCLS.





Sensibilità: Il metodo presentato mostra una sensibilità di 1,0 U/L, con una risoluzione strumentale di $A = 0,001$.

Riferimenti bibliografici

- Kachmar JF., Moss DW., In Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd ed. NW Tietz, Editor. WB Saunders, Philadelphia, 1976, p 682.
- Row CR et al., J Lab Clin. Med., 80:557, 1972.
- Szasz G., Proceedings of the Second International Symposium on Clinical Enzymology, Chicago, October 1975.
- Rosalki S.B., J Lab Clin. Chem., 23:646, 1977.
- Morin LG, Clin. Chem., 23:646, 1977.
- Nealon DA, Henderson AR., Clin. Chem., 23:646, 1977.
- Young DS et al., Clin. Chem., 21: 286D, 1975 (pubblicazione speciale).
- Tietz, Norbert W., Clinical Guide To Laboratory Tests, W.B. Saunders Company, Philadelphia, PA., (1995), p180.
- Dati di laboratorio forniti dal produttore


Legenda

 Utilizzare entro (aaaa-mm-gg)	 LOT Codice lotto e gruppo
 REF N. catalogo	 Fabbricante
 IVD Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>	 Limiti di temperatura
 Consultare il manuale utente	Rx Only: utilizzare solo su prescrizione
 CE Marchio CE	 EC REP Rappresentante autorizzato per la Comunità Europea

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

Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Rappresentante autorizzato per l'Europa:
Obelis s.a.
Boulevard Général Wahis 63
1030 Bruxelles, BELGIO
tel: (32)2.732.59.54 fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



Reagenti certificati

I reagenti Pointe sono certificati per essere stati prodotti conformemente ai parametri specificati. Se entro la data di scadenza un reagente Pointe dovesse risultare non conforme alle specifiche, sarà prontamente sostituito senza alcun addebito.