

Uso previsto

Determinazione quantitativa della creatin chinasi nel siero, utilizzando l'analizzatore Yumizen C560. Esclusivamente per fini diagnostici *in vitro*. **Solo su prescrizione.**

Riassunto e principi base del metodo

La misurazione dei livelli sierici di creatin chinasi (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 creatin chinasi 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'assorbanza del NADPH al minuto a 340 nm.

Reagenti

Il CK R1 (tampone) 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; diadensosina 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

1. I reagenti devono avere un aspetto limpido e incolore. Non utilizzare se uno dei due appare torbido o contenente particolato.
2. 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.
3. Studi condotti dal produttore hanno dimostrato che, dopo essere stati inseriti nell'apposito caricatore refrigerato (2-10°C), i reagenti restano stabili per 30 giorni; tuttavia, la stabilità del reagente può variare in base alle condizioni dei singoli laboratori.

Precauzioni e pericoli

1. Il reagente è destinato esclusivamente a fini diagnostici *in vitro*.
2. Adottare le normali precauzioni per la manipolazione dei reagenti di laboratorio.
3. 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.

Pericoli:

R1 e R2: Classificazione dei pericoli: Sostanza o miscela non pericolosa.

Icone: Non necessarie.

Parole segnale: Non necessarie.

Indicazioni di pericolo: Sostanza o miscela non pericolosa.

Consigli di prudenza: Sostanza o miscela non pericolosa. **Consultare la Scheda di sicurezza del prodotto (SDS-C7522) disponibile chiamando il numero: 1-734-487-8300.**

Raccolta e manipolazione dei campioni

1. I campioni devono preferibilmente contenere siero limpido non emolizzato. Non sono necessari additivi o conservanti speciali.
2. Se possibile, i campioni vanno separati e analizzati il giorno del prelievo e conservati in provette chiuse.
3. 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

1. Iniezioni intramuscolari e un intenso esercizio fisico possono far aumentare la CK sierica.
2. Cloruri e solfati inibiscono l'attività della CK.
3. Si è osservato che livelli di bilirubina fino a 40 mg/dl e livelli di trigliceridi fino a 1550 mg/dl non interferiscono con questo esame.⁹
4. 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

1. Analizzatore Yumizen C560
2. Manuale utente per l'analizzatore Yumizen C560
3. Controllo chimico, numero di catalogo C7592-100

Calibrazione

L'attività della CK si basa sul "coefficiente di estinzione micromolare" del NADP a 340 nm. 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.

Limitazioni

Se il Δ 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.

Kit reagenti Creatinchinasi Pointe

Controllo qualità

La bontà della reazione va monitorata utilizzando sieri di controllo con valori normali e patologici noti di creatinchinasi. I controlli vanno eseguiti in ogni turno in cui si effettuano analisi della creatinchinasi. 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

- Intervallo di analisi: 1-1200 U/L per test eseguiti in conformità con le linee guida EP6-P dell'istituto NCCLS.
- Comparazione: È stato condotto uno studio comparativo tra l'impiego dell'analizzatore Yumizen C560 e di un analizzatore simile per l'applicazione del metodo. I risultati sono riportati nella tabella sottostante:

Metodo	Creatinchinasi
N	87
CK media (U/L)	185,2
Intervallo (U/L)	5-1019
Deviazione standard	243,3
Analisi di regressione	$y = 0,994x - 5,9$
Coefficiente di correlazione	0,9946

- Precisione: Gli studi sulla precisione sono stati eseguiti seguendo una modifica delle linee guida contenute nel documento EP5-T2 dell'istituto NCCLS.

Campione	Intra-giorn.			Totale		
	BASSA	MEDIA	ALTA	BASSA	MEDIA	ALTA
N	20	20	20	40	40	40
Media	135,6	275,8	953,0	114,1	251,3	958,2
Deviazione standard	1,5	1,4	2,5	3,6	4,2	7,0
Coefficiente di variazione (%)	1,1%	0,5%	0,3%	3,2%	1,7%	0,7%

- Sensibilità: 2SD limite di rilevabilità (95% conf) = 1 U/l

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

PARAMETRI CHIMICI

Analisi chim.:	CK	N.	211	Tipo campione:	Siero
Denominazione:	Creatinchinasi			Nome etichetta:	CK
Tipo reazione:	cinetica			Direzione reazione:	Positiva
Lungh. d'onda prim.:	340			Lungh. d'onda sec.:	412
Unità:	U/L			Decimale	0
T. bianco:	0 0			T. reazione:	56 71
	Vol. campione	Aspirato	Diluyente	Vol. reagente	Diluyente
Standard:	3.3 ul	--- ul	--- ul	R1:	120 ul --- ul
Decremento :	3.3 ul	20 ul	180 ul	R2:	30 ul -- ul
Incremento:	--- ul	--- ul	--- ul	R3:	--- ul -- ul
	<input type="checkbox"/> Bianco camp.	<input checked="" type="checkbox"/> Ripetiz. automat.		R4:	--- ul --- ul
<u>Regolazione pendenza/ Offset</u>					
	Pendenza: 1		Offset: 0		

Intervallo linearità (standard)	1	1200	Limite linearità:	0.3
Intervallo linearità (decremento)	10	1200	Esaurim. substrato:	25000
Intervallo linearità (incremento)	---	---	Assorb bianco mix:	
Assorb bianco R1:	---	---	T. apertura	
Risp. bianco:	---	---	Limite allarme reag.:	
Doppia chim.:			<input type="checkbox"/> Est. Lineare enzimi	
<input type="checkbox"/> Controllo eff. prozona		<input type="radio"/> Controllo livello	<input type="radio"/> Aggiunta antigene	
Q1:	Q2:	Q3:	Q4:	
PC:	ABS:			

Kit reagenti Creatinchinasi Pointe

PAMETRI DI CALIBRAZIONE

Definizione calibratore						
Calibratore:	*			N. lotto:	*	
Data di scadenza:	*					
Caricatore						
		Pos.				
Caricatore campioni 1		*				
Caricatore campioni 2						
Caricatore campioni 3						
Reagente/calibrazione						
<u>Calibratore</u>	<u>Pos.</u>	<u>N. lotto</u>	<u>Data scad.</u>	<u>Analisi</u>	<u>Conc.</u>	<u>Unità</u>
Acqua	W	*	*	CK	0	U/L
Configurazione calibrazione						
Analisi chim.:	CK					
<u>Impostazioni calibr.</u>						
Modello mat.:	Fattore K					
Fattore:	6158	Repliche:	1			
<u>Limiti accettabilità</u>						
T. calibr.:	24	h				
Diff. pendenza:	---	DS:	---			
Sensibilità:	---	Ripetibilità:	---			
Coeff. deter.:	---					
<u>Calibr. autom.</u>						
<input type="checkbox"/> Cambio flacone	<input type="checkbox"/> Cambio lotto	<input type="checkbox"/> Ora cal.				

Si raccomanda di analizzare quotidianamente due livelli di materiale di controllo.

* Indica un parametro definito dall'utente.

REF 14-C7522-220



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



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.

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

Rappresentante autorizzato per l'Europa:
Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53
1030 Bruxelles, BELGIO

tel: (32)2.732.59.54 fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



Legenda



Utilizzare entro (aaaa-mm-gg)



Codice lotto e gruppo



N. catalogo



Fabbricante



Limitazioni di temperatura



Consultare il manuale di istruzioni