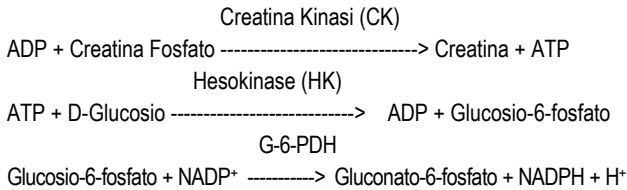


Determinazione quantitativa dell'attività del CK (Creatina Kinasi) nel siero o plasma. Metodo cinetico in UV ottimizzato IFCC / DGKC

REF CC1152 R1:3x20 mL + R2: 1x15 mL **REF CC1150** R1:3x40 mL+ R2: 1x30mL

PRINCIPIO DEL METODO

Metodo cinetico per la determinazione della CK-NAC secondo le raccomandazioni della IFCC e della DGKC (German Society of Clinical Chemistry). La reazione catalizzata dalla CK, attivata dalla N-Acetil Cisteina (NAC), e le reazioni secondarie sono le seguenti:



La velocità di formazione del NADPH produce un incremento di Assorbanza che, letta a 340 nm, è direttamente proporzionale all'attività catalitica della CK nel campione in esame.

SIGNIFICATO CLINICO

I valori di creatina chinasi (CK) sono alti nei pazienti con infarto miocardico, distrofia muscolare progressiva, miopatia alcolica e delirium tremens, ma normali nei pazienti con epatite e altre forme di malattia epatica. I valori elevati nei pazienti con ipotiroidismo riflettono i cambiamenti muscolari in questa condizione. Anche se la CK si trova quasi esclusivamente nel miocardio, nel muscolo e nel cervello, nei primi rapporti è stato suggerito che fosse un indice quasi specifico di lesione del miocardio e dei muscoli; rapporti più recenti indicano che, in pazienti con infarto polmonare ed edema polmonare, possono insorgere valori inspiegabilmente elevati di CK nel siero. Allo stato attuale, dovrebbe essere considerato un utile, ma non completamente specifico, ausilio nella diagnosi della malattia miocardica e muscolare. La specificità del dosaggio CK è migliorata dalla misurazione dei suoi isoenzimi.

COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

Reagente R1:

Tampone Imidazolo, pH 6,7	100 mmol/L
Glucosio	20 mmol/L
NAC (N-Acetil-Cisteina)	20 mmol/L
Magnesio Acetato	10 mmol/L
NADP	2,5 mmol/L
Hesokinase (HK)	≥ 4 KU/L
EDTA-Na2	2 mmol/L

Reagente R2:

Creatina Fosfato	30 mmol/L
AMP	5 mmol/L
ADP	2 mmol/L
Di-Adenosin-Penta-Fosfato	10 μmol/L
G6P-DH	≥ 1,5 KU/L

PREPARAZIONE REAGENTI E STABILITÀ

Reagenti liquidi e pronti all'uso, stabili fino alla data di scadenza riportata, se conservati come riportato in etichetta e si evitano contaminazione, evaporazioni ed esposizione prolungata alla luce diretta.

Non congelare i reagenti.

Scartare il reagente se appaiono segni di deterioramento come presenza di particelle e torbidità oppure mancato recupero dei valori di sieri di controllo certificati.

Dopo l'apertura dei flaconi, si consiglia di prelevare il volume necessario, di richiudere immediatamente i flaconi e di riportarli in frigo al fine di evitare contaminazione, degradazione da luce diretta ed evaporazione.

Per la procedura Campione Starter, preparare una Soluzione di Lavoro miscelando 4 parti di R1 ed 1 parte di R2 (per esempio 20 mL di R1 + 5 mL di R2). Stabilità: 3 gg a 15-25° C, 15 giorni a 2-8°C.

Per la Procedura Reagente Starter, i reagenti R1 ed R2 sono pronti all'uso e stabili fino alla data di scadenza riportata in etichetta se si evitano contaminazione, degradazione da luce diretta ed evaporazione

CAMPIONI

Siero, Plasma da eparina o EDTA. Non utilizzare campioni emolisi.

Separare il siero dal coagulo nel più breve tempo possibile.

L'enzima nel siero è stabile per 2 giorni a temperatura ambiente, 7 giorni a 2-8°C, e 1 mese a -20°C

Scartare i campioni contaminati.

PROCEDURA

Lunghezza d'onda:	340 nm
Temperatura:	37°C
Misura:	contro acqua distillata

Procedimento come Monoreagente (Campione Starter).

Pipettare come segue:

Soluzione Lavoro	1000 μL
Campione /Calibratore	40 μL

Miscelare, trasferire in lettura, attendere 3 minuti e leggere l'Assorbanza iniziale (Abs1) e le Abs dopo 1,2 e 3 minuti esatti. Calcolare i ΔAbs/minuto ed effettuare la media aritmetica.

Procedimento come bi-reagente (Reagente Starter).

Pipettare come segue:

Reagente R1	800 μL
Campione /Calibratore	40 μL

Miscelare, incubare 2 minuti, quindi aggiungere:

Reagente R2	200 μL
-------------	--------

Miscelare, trasferire in lettura, attendere 1 minuto e leggere l'Assorbanza iniziale (Abs1) e le Abs dopo 1,2 e 3 minuti esatti. Calcolare i ΔAbs/minuto ed effettuare la media aritmetica.

CALCOLO

Fattore di Calcolo (lettura a 340 nm in cuvette di 1 cm di percorso ottico):

$$\text{CK (U/L)} = \text{Media } \Delta \text{ Abs/minuto} \times 4127$$

Calibratore Multiparametrico:

Ricavare il Fattore di Calcolo dall'uso di un Calibratore Multiparametrico

$$\text{Fattore Calcolo} = \frac{\text{Concentrazione Calibratore}}{\text{Media } \Delta \text{ Abs/minuto Calibratore}}$$

$$\text{CK (U/L)} = \text{Media } \Delta \text{ Abs/minuto} \times \text{Fattore Calcolo}$$

$$\text{Fattore di conversione: U/L} \times 0,0167 = \mu\text{Kat/L} = \mu\text{mol/sec/L}$$

CALIBRAZIONE

I risultati dipendono dalla accuratezza della calibrazione, dal corretto settaggio del test sullo strumento, dal giusto rapporto volumetrico reagente/campione e dalla corretta temperatura di analisi.

Usare il Calibratore **MTD Diagnostics:**

Chemistry Multicalibratore - REF CAL1010 (10 x 3 mL).

CONTROLLO QUALITA'

Sieri di controllo normali e patologici ad attività enzimatica nota, devono essere analizzati regolarmente in ogni seduta analitica

Utilizzare il materiale di controllo di qualità di MTD Diagnostics:

Chemistry Control N - REF CNN1010 10x5 mL (Livello 1)

Chemistry Control P - REF CNP1020 10x5 mL (Livello 2)

VALORI DI RIFERIMENTO BIBLIOGRAFICI

Donne Adulte	25 - 145 U/L
Uomini Adulti	25 - 190 U/L
Cordone Ombelicale	175 - 402 U/L
Neonati (1 gg)	468 - 1200 U/L
Neonati (1-5 gg)	195 - 700 U/L
Neonati (5 - 180 gg)	41 - 330 U/L
Bambini (> 180 gg)	24 - 229 U/L

Potenzialmente si è in presenza di infarto del miocardio al verificarsi delle seguenti 3 condizioni:

1. CK Uomo > 190 U/L oppure CK Donne > 167 U/L
2. CK-MB > 24 U/L
3. Attività del CK-MB tra il 6 ed il 25% dell'attività del CK Totale.

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire un range di valori attesi in base alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare il proprio intervallo di riferimento. A fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati insieme alla storia medica del paziente, all'esame clinico e ad altri risultati.

PRESTAZIONI

PRECISIONE:

Livello basso: Campioni= 20; Media = 127; D.S. = 3,47; CV = 2,71%

Livello alto: Campioni= 20; Media = 198; D.S. = 2,91; CV = 1,46%

ACCURATEZZA (CORRELAZIONE): Una comparazione tra questo metodo (x) ed un metodo certificato del commercio (y) ha dato la seguente correlazione:

$$y = 0,968x + 3,41 \text{ con } r = 0,997$$

SENSIBILITA': 4 U/L

LINEARITA': 4 - 820 U/L

INTERFERENZA E SPECIFICITA'

Nessuna interferenza osservata con presenza di nei campioni di acido ascorbico fino a 30 mg/dL, bilirubina fino a 20 mg/dL, emoglobina fino a 25 mg/dL e trigliceridi fino a 900 mg/dL.

NOTE

1. Questo metodo può essere utilizzato con diversi strumenti. Qualsiasi applicazione a uno strumento deve essere validata per dimostrare che i risultati soddisfano le caratteristiche di prestazione del metodo. Si consiglia di validare periodicamente lo strumento. Contattare il proprio distributore per qualsiasi domanda sul metodo di applicazione.

2. La diagnosi clinica non dovrebbe essere fatta sui risultati di un singolo risultato del test, ma dovrebbe integrare sia i dati clinici che quelli di laboratorio

PRECAUZIONI

Il prodotto non contiene altre sostanze o miscele pericolose secondo la regolamentazione CE n° 1272/2008 (CLP) ovvero le loro concentrazioni sono tali da non essere considerate persistenti, bioaccumulanti o tossiche (PBT). Pertanto, esso non è soggetto alla etichettatura speciale prevista dalla suddetta regolamentazione. Il prodotto è etichettato secondo la direttiva per la marcatura CE (98/79/CE). Sodio Azide inferiore a 0.1%.

Tuttavia, in osservanza alle normali norme di prudenza che ognuno deve osservare allorchè maneggi qualunque sostanza chimica o reagente di laboratorio, in caso di contatto dei Reagenti con l'operatore, occorre applicare i seguenti interventi di primo soccorso:

S26 (P305 - P351 - P338): In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare il medico.

S28 (P302 - P352): In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente ed abbondantemente.

S36/37/39 (P280): Usare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi/la faccia.

S46 (P301 - P310): In caso d'ingestione consultare immediatamente il medico e mostrargli il contenitore o l'etichetta. Se la vittima è cosciente, lavare la bocca con acqua.

S56 (P273): Smaltire questo materiale e relativi contenitori in un punto di raccolta autorizzato per rifiuti pericolosi o speciali.

S63 (P304 - P340): In caso di incidente per inalazione, allontanare l'infortunato dalla zona contaminata e mantenerlo a riposo.

Tutti i campioni in esame, calibratori e controlli devono essere trattati come materiale potenzialmente infettivo capace di trasmettere HIV ed epatiti

PER OGNI ALTRA INDICAZIONE, RICHIEDERE LA SCHEDA DI SICUREZZA AL PRODUTTORE.

SIMBOLOGIA

	Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79 CE)		
	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti temperatura di conservazione
	Consultare istruzioni per l'uso		Dimensione / numero test
REF	Numero di catalogo		Scadenza
LOT	Numero di lotto		Fabbricante

BIBLIOGRAFIA

Lorentz K, Röhle G, Siekmann L. Introduction of new standard methods 1994 for the determination of catalytic enzyme concentrations at 37 °C. DG KlinischeChemieMitteilungen 1995;26:290-3.

Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 617-721.