

**Kit per la determinazione della creatinichinasi nel siero o plasma
Metodo UV cinetico ottimizzato DGKC-IFCC***

*Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie - International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine

PRINCIPIO

La creatinichinasi (CK) catalizza la reazione tra creatinfosfato ed ADP, con formazione di creatina e ATP. Quest'ultimo, in presenza di glucosio ed esochinasi (HK), viene ritrasformato in ADP e glucosio-6-fosfato che, con l'intervento della glucosio-6-fosfato-deidrogenasi (G6P-DH) dà luogo al glucosio-6-fosfogluconato e il NADP⁺ è ridotto a NADPH. Misurando la variazione di estinzione, dovuta alla trasformazione del NADP⁺ in NADPH, si calcola l'attività della CK nel campione.

REATTIVI - Concentrazione iniziale

R1 Tampone imidazolo pH 7.10 100.0 mmol/l; magnesio acetato 10.0 mmol/l
R2 ADP 2.0 mmol/l; G6PDH ≥ 2000 U/l; creatin fosfato 30.0 mmol/l ;
EDTA 2.0 mmol/l; eccipienti

CAMPIONI

- Siero o plasma anticoagulato con eparina.

Note

- Conservare i campioni al riparo dalla luce.
- L'attività della CK è stabile 7 giorni a 2-8°C o 30 giorni a -20°C.

VALORI DI RIFERIMENTO

Siero - plasma [U/l]	25°C	30°C	37°C
Donne	10-70	15-110	24-170
Uomini	10-80	15-130	24-195

I valori di riferimento sono da considerarsi indicativi in quanto ogni laboratorio dovrebbe ricercare quelli della popolazione su cui opera. I risultati dei test dovrebbero essere interpretati unitamente alle informazioni derivanti dalle valutazioni cliniche del paziente.

PREPARAZIONE DEI REATTIVI

Sciogliere il contenuto del flacone **R2** con la soluzione del flacone **R1**. Nel caso di test unitario sciogliere il contenuto del flacone **R2** con 3 ml della soluzione del flacone **R1**.

Togliere i reattivi dal frigo solo il tempo necessario per il loro utilizzo e richiuderli subito dopo.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

- Conservare il kit a 2-8°C. Non congelare i reattivi.
- Stabilità del reattivo ricostituito: 7 giorni a 2-8°C.

NOTE

- Il kit con la presente metodica deve essere utilizzato in manuale. Per l'utilizzo in automatico consultare le applicazioni specifiche.
- Valutare attentamente i risultati se l'estinzione del reattivo di lavoro è > 0.200 a 340 nm.
- Evitare di esporre i reattivi alla luce diretta, contaminazione ed evaporazione.
- I volumi indicati nel procedimento possono essere variati proporzionalmente.
- In caso di reclamo o di richiesta del controllo di qualità del presente kit, indicare il numero di lotto riportato sulla confezione o, in alternativa, il numero di lotto dei singoli componenti.

MATERIALI AUSILIARI

Materiali necessari non contenuti nel kit: soluzioni diluenti, vetreria e monouso, sistemi di dosaggio e misurazione, calibratori per la taratura degli strumenti.

CONTROLLO DI QUALITÀ

È necessario eseguire i controlli ad ogni utilizzo del kit e verificare che i valori ottenuti siano inclusi nell'intervallo di riferimento riportato nelle istruzioni d'uso.

Sieri consigliati:

REF 20350 Precise Norm REF 20360 Precise Path

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

Il prodotto non è classificato come sostanza pericolosa (DLg. N.285 art.28 Legge n.128 del 1998). La concentrazione totale dei componenti è inferiore ai limiti riportati dalle Direttive 67/548/CEE e 88/379/CEE e successive modifiche sulla classificazione, imballaggio ed etichettatura delle sostanze pericolose.

È consigliabile tuttavia maneggiare il prodotto con cautela secondo le norme di buona pratica di laboratorio.

Attenzione: i reattivi contengono Sodio Azide (0.095%) come conservante. Evitare l'ingestione ed il contatto con pelle, occhi e mucose.

SMALTIMENTO RIFIUTI

Il prodotto deve essere smaltito secondo le locali normative in materia di gestione dei rifiuti.

PROCEDIMENTO

Lunghezza d'onda λ: 340 (334 o 365) nm
Temperatura di lavoro 37°C (25° o 30°C)
Cammino ottico 1 cm
Tipo di reazione cinetica (in incremento)

Portare i reattivi a 15-25°C prima del loro utilizzo.

REATTIVO DI LAVORO	BIANCO	CAMPIONE
ACQUA DISTILLATA	1500 µl	1500 µl
CAMPIONE	50 µl	--
	--	50 µl

Agitare e dopo 2' leggere l'estinzione. Effettuare almeno due letture a distanza di 60". Calcolare la variazione di estinzione ΔE/min dalle letture eseguite.

CALCOLO

340 nm	CK [U/l] = ΔE/min x 4921
365 nm	CK [U/l] = ΔE/min x 9118

Il fattore e le prestazioni del reattivo sono riferite a 37°C e 340 nm.

PRESTAZIONI DEL REATTIVO
Interferenze

La bilirubina non interferisce con il test sino alla concentrazione di 50 µmol/l.
I trigliceridi non interferiscono sino alla concentrazione di 1000 mg/dl.
L'emoglobina non interferisce sino alla concentrazione di 1.0 g/l.

Linearietà

La reazione è lineare sino alla concentrazione di 1200 U/l. Campioni superiori a 1200 U/l devono essere diluiti con soluzione fisiologica. Moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

Precisione "intra-Assay" (NELLA SERIE)

Determinata su 30 replicati per ciascun controllo (N-H) (Normal-High).

Risultati ottenuti:

MEDIA [U/l]	N = 142.40	H = 451.90
D.S.	2.17	2.23
C.V.%	1.52	0.49

Precisione "inter-Assay" (FRA LE SERIE)

Determinata su 15 replicati per ciascun controllo (N-H) per 3 giorni. Risultati ottenuti:

MEDIA [U/l]	N = 142.13	H = 452.93
D.S.	2.67	3.17
C.V.%	1.88	0.70

Sensibilità analitica

Soglia di sensibilità espressa dal metodo: 9.5 U/l.

Correlazione

Un metodo equivalente preso a riferimento, correlato su 21 campioni con il reattivo in esame, ha dato un fattore di correlazione **r = 0.99**

BIBLIOGRAFIA

Ann. Biol. Clin., (1982), 40, 99.

SIMBOLOGIA


Consultare istruzioni per l'uso



Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79/CE)



Limiti temperatura di conservazione



Dispositivo medico-diagnostico in vitro



Fabbricante

**Kit for measurement of creatin kinase in serum or plasma
 UV kinetic optimized method DGKC-IFCC***

*Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie - International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine

PRINCIPLE

Creatin kinase (CK) catalyzes reaction between creatine phosphate and ADP, giving creatine and ATP. This one, in presence of glucose and hexokinase (HK) is transformed into ADP and glucose-6-phosphate which, with glucose-6-phosphate-dehydrogenase (G6P-DH) intervention, forms glucose-6-phosphogluconate while NADP⁺ is reduced to NADPH. The CK activity in the sample is calculated measuring the absorbance variation, due to the transformation of NADP⁺ into NADPH.

REAGENTS

R1 Imidazole buffer pH 7.10 100.0 mmol/l; magnesium acetate 10.0 mmol/l
R2 ADP 2.0 mmol/l; G6P-DH ≥ 2000 U/l; creatine phosphate 30.0 mmol/l;

EDTA 2.0 mmol/l; excipients

SAMPLE

- Serum or heparinized plasma.

Note

- Store the samples protected from light.
 - The CK activity is stable for 7 days at 2-8°C or 30 days at -20°C.

REFERENCE VALUES

Serum - plasma [U/l]	25°C	30°C	37°C
Women	10-70	15-110	24-170
Men	10-80	15-130	24-195

References values are considered indicatives since each laboratory should establish references ranges for its own patient's population. The analytical results should be evaluated with other information coming from patient's clinical story.

PREPARATION OF REAGENTS

Dissolve the content of **R2** vial with **R1** solution. In case of unitary test dissolve the content of **R2** vial with 3 ml of **R1** solution.

Keep out the reagents from refrigerator only for the use and recap them immediately.

STORAGE AND STABILITY

- Store the kit at 2-8°C. Do not freeze the reagents.
 - Reconstituted reagent stability: 7 days at 2-8°C.

NOTE

- The kit, according to this method, must be used in manual procedures. About automatic using follow specific applications.
 - Evaluate carefully the results if working reagent absorbance is > 0.200 at 340 nm.
 - Avoid direct light, contamination and evaporation.
 - The volumes in the procedure can be changed proportionally.
 - In case of complaint or quality control request, refer to the lot number on the package or the lot number on the singles vials.

AUXILIARY EQUIPMENT

Materials not included in the kit: diluent solutions, laboratory glassware, disposable tips, photometers and calibrators.

QUALITY CONTROLS

It's necessary, every time the kit is used, to make the quality controls and to check that values obtained are within the acceptance range provided in the insert.

Suggested serum:

REF 20350 Precise Norm

REF 20360 Precise Path

PRECAUTION IN USE

The product is not classified as dangerous (DLg. N. 285 art. 28 l. n. 128/1998). The total concentration of components is lower than the limits reported by 67/548 and 88/379 CE Regulations (and following modifications) about classification, packaging and labelling of dangerous substances.

However the reagent should be handled with caution, according to good laboratory practice.

Caution: the reagents contain Sodium Azide (0.095%) as preservative. Avoid swallowing and contacting with skin, eyes and mucous membranes.

WASTE MANAGEMENT

Please refer to the local legal requirements.

PROCEDURE

Wavelength λ: 340 (334 o 365) nm
 Working temperature 37°C (25° o 30°C)
 Optical path 1 cm
 Reaction kinetic (increasing)

Bring the reagents at 15-25°C before using them.

	BLANK	SAMPLE
WORKING REAGENT	1500 µl	1500 µl
DISTILLED WATER	50 µl	--
SAMPLE	--	50 µl

Mix and after 2' measure the absorbance. Make at least two readings at a distance of 60". Calculate the absorbance variation ΔE/min.

CALCULATION

340 nm	CK [U/l] = ΔE/min x 4921
365 nm	CK [U/l] = ΔE/min x 9118

The factor and the reagent performances are related to 37°C and 340 nm.

ANALYTICAL PERFORMANCES
Interferences

Bilirubin does not interfere up to concentration of 50 µmol/l.
 Triglycerides do not interfere up to concentration of 1000 mg/dl.
 Hemoglobin does not interfere up to concentration of 1.0 g/l.

Linearity

Reaction is linear up to a concentration of 1200 U/l. Samples with values exceeding 1200 U/l must be diluted with saline solution. Multiply, then, the result for diluting factor.

"Intra-Assay" precision (within-Run)

Determined on 30 samples for each control (N-H) (Normal-High).

Results:

MEAN [U/l]	N = 142.40	H = 451.90
S.D.	2.17	2.23
C.V.%	1.52	0.49

"Inter-Assay" precision (between-run)

Determined on 15 samples for each control (N-H) for 3 days.

Results:

MEAN [U/l]	N = 142.13	H = 452.93
S.D.	2.67	3.17
C.V.%	1.88	0.70

Analytical sensitivity

The test sensitivity in terms of detection limit is 9.5 U/l.

Correlation

A study based comparing this method with a similar method on 21 samples has given a correlating factor **r = 0.99**

BIBLIOGRAPHY

Ann. Biol. Clin., (1982), 40, 99.

SYMBOLS


Read instruction for use



CE mark (requirement of 98/79 regulation)



Storing temperature limits



In vitro medical device



Producer