

## Kit per la determinazione della creatinichinasi nel siero o plasma Metodo 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'ultima, in presenza di glucosio ed esochinasi (HK), viene ritrasformata 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<sup>+</sup> è ridotto a NADPH. Misurando la variazione di estinzione, dovuta alla riduzione del NADP<sup>+</sup> in NADPH, si calcola l'attività della CK nel campione.

### REATTIVI - Concentrazione iniziale

**R1** Tampone imidazolo pH 6.3 100.0 mmol/l; esochinasi (HK) 2500 U/l; magnesio acetato 10.0 mmol/l; glucosio-D 20.0 mmol/l; EDTA 2.0 mmol/l;

AMP 20.0 mmol/l; NADP 2.0 mmol/l; diadenosina fosfato 10.0 mmol/l; N-acetilcisteina (NAC) 20.0 mmol/l

**R2** Tampone imidazolo pH 9.13 100.0 mmol/l; G6P-DH 8000 U/l; creatinfosfato 30.0 mmol/l; ADP 10.50 mmol/l; EDTA Na2 2.0 mmol/l

### 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
Adulti: Donne	10 - 70	15 - 110	24 - 170
Uomini	10 - 80	15 - 125	24 - 195
Bambini: Neonati	192 - 494	300 - 770	468 - 1200
≤ 5 giorni	80 - 288	125 - 450	195 - 700
< 6 mesi	17 - 136	27 - 212	41 - 330
> 6 mesi	10 - 94	15 - 147	24 - 229

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

### CONSERVAZIONE E STABILITÀ

- Conservare il kit a 2-8°C. Non congelare i reattivi.

- Dopo l'apertura, i flaconi **R1** e **R2** sono stabili fino alla data di scadenza indicata se richiudi immediatamente dopo il prelievo, protetti da contaminazione, evaporazione, luce diretta e conservati alla temperatura corretta.

- Stabilità della soluzione di lavoro (**R1 + R2**): 21 giorni a 2-8°C.

### PREPARAZIONE DEI REATTIVI

I reattivi sono liquidi e pronti all'uso. Per l'utilizzo come monoreattivo (procedimento "campione starter") aggiungere ogni 4 ml del reattivo **R1**, 1 ml del reattivo **R2**. Per le confezioni da 3 ml utilizzare 2.5 ml di **R1** e 0.5 ml di **R2**.

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

### 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.

### - PROCEDIMENTO MONOREATTIVO "campione starter"

	BIANCO	CAMPIONE
REATTIVO DI LAVORO	1000 µl	1000 µl
ACQUA DISTILLATA	25 µl	--
CAMPIONE	--	25 µl

Agitare e dopo 1 min. leggere l'estinzione. Effettuare almeno due letture a distanza di 60 sec. Calcolare la variazione media di estinzione per minuto ( $\Delta E/\text{min}$ ).

### - PROCEDIMENTO BIREATTIVO "substrato starter"

	BIANCO	CAMPIONE
REATTIVO R1	800 µl	800 µl
ACQUA DISTILLATA	25 µl	--
CAMPIONE	--	25 µl

Miscelare poi incubare a 37°C per circa 5', quindi aggiungere:

	BIANCO	CAMPIONE
REATTIVO R2	200 µl	200 µl

Agitare e dopo 1 min. leggere l'estinzione. Effettuare almeno due letture a distanza di 60 sec. Calcolare la variazione di estinzione media per minuto ( $\Delta E/\text{min}$ ).

### CALCOLO

$$CK [U/l] = \Delta E/\text{min} \times 6507$$

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 40 mg/dl.

I trigliceridi non interferiscono sino alla concentrazione di 2000 mg/dl.

L'emoglobina non interferisce sino alla concentrazione di 200 mg/dl.

L'acido ascorbico non interferisce sino alla concentrazione di 30 mg/dl.

#### Linearità

La reazione è lineare sino alla concentrazione di 1600 U/l (corrispondente ad un  $\Delta E/\text{min}$  di 0.246 a 340 nm). Campioni superiori a 1600 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 (L-N-H) (Low-Normal-High).

Risultati ottenuti:

MEDIA [U/l]	L = 82.7	N = 168.9	H = 413.9
D.S.	2.00	4.05	15.92
C.V.%	2.42	2.40	3.85

#### Precisione "inter-Assay" (FRA LE SERIE)

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

MEDIA [U/l]	L = 87.80	N = 166.82	H = 398.93
D.S.	2.87	4.26	9.33
C.V.%	3.27	2.55	2.34

#### Correlazione

Un metodo equivalente preso a riferimento, correlato su 21 campioni con il reattivo in esame, ha dato un fattore di correlazione  $r = 0.97$

### BIBLIOGRAFIA

Stein, W. "Creatine kinase (total activity), creatine kinase isoenzymes and variants". In: Thomas L, ed. Clinical laboratory diagnostics. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; p. 71-80, (1998).

Recommendations of the German Society for Clinical Chemistry. "Standardization of methods for the estimation of enzyme activities in biological fluids: Standard method for the determination of creatine kinase activity". J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 15, 255-60, (1977).

Moren, L.G., Clin. Chem., 23, 1569 (1977).

Kaplan, L.A., Pesce, A.: "Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1996).

### 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 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<sup>+</sup> is reduced to NADPH. The CK activity in the sample is calculated measuring the absorbance variation, due to the reduction of NADP<sup>+</sup> into NADPH.

### REAGENTS

- R1** Imidazole buffer pH 6.3 100.0 mmol/l; hexokinase (HK) 2500 U/l; magnesium acetate 10.0 mmol/l; D-glucose 20.0 mmol/l; EDTA 2.0 mmol/l; AMP 20.0 mmol/l; NADP 2.0 mmol/l; diadenosine phosphate 10.0 mmol/l; N-acetyl-cysteine (NAC) 20.0 mmol/l
- R2** Imidazole buffer pH 9.13 100.0 mmol/l; G6P-DH 8000 U/l; creatine phosphate 30.0 mmol/l; ADP 10.50 mmol/l; EDTA Na2 2.0 mmol/l

### CAMPIONI

- 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
Adults: Women	10 - 70	115 - 110	24 - 170
Men	10 - 80	15 - 125	24 - 195
Children: Babies	192 - 494	300 - 770	468 - 1200
≤ 5 days	80 - 288	125 - 450	195 - 700
< 6 months	17 - 136	27 - 212	41 - 330
> 6 months	10 - 94	15 - 147	24 - 229

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

### STORAGE AND STABILITY

- Store the kit at 2-8°C. Do not freeze the reagents.
- After opening, the vials **R1** and **R2** are stable up to the expiry date if recapped immediately and protected from contamination, evaporation, direct light, and stored at the correct temperature.
- Working solution stability (**R1+ R2**): 21 days at 2-8°C.

### PREPARATION OF REAGENTS

Reagents are liquid and ready to use. About using as monoreagent (sample-starter procedure) add to every 4 ml of **R1** reagent, 1 ml of **R2** reagent. In case of 3 ml package use 2.5 ml of **R1** and 0.5 ml of **R2**. Keep out the reagents from refrigerator only for the use and recap them immediately.

### 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.

### - MONOREAGENT PROCEDURE "sample starter"

WORKING REAGENT	BLANK	SAMPLE
DISTILLED WATER	1000 µl	1000 µl
SAMPLE	25 µl	--
	--	25 µl

Mix and after 1' measure the absorbance. Make at least two readings at a distance of 60". Calculate the average absorbance difference per minute (ΔE/min).

### - BIREAGENT PROCEDURE "substrate starter"

REAGENT R1	BLANK	SAMPLE
DISTILLED WATER	800 µl	800 µl
SAMPLE	25 µl	--
	--	25 µl

Mix, incubate at 37°C for about 5' and then add:

REAGENT R2	BLANK	SAMPLE
	200 µl	200 µl

Mix and after 1' measure the absorbance. Make at least two readings at a distance of 60". Calculate the average absorbance difference per minute (ΔE/min).

### CALCULATION

$$CK [U/l] = \Delta E/min \times 6507$$

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 40 mg/dl.  
Triglycerides do not interfere up to concentration of 2000 mg/dl.  
Hemoglobin does not interfere up to concentration of 20 mg/dl.  
Ascorbate acid does not interfere up to concentration of 30 mg/dl.

#### Linearity

Reaction is linear up to a concentration of 1600 U/l (corresponding to ΔE/min of 0.246 a 340 nm). Samples with values exceeding 1600 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 (L-N-H) (Low-Normal-High).

Results:

MEAN [U/l]	L = 82.7	N = 168.9	H = 413.9
S.D.	2.00	4.05	15.92
C.V.%	2.42	2.40	3.85

#### "Inter-Assay" precision (between-run)

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

Results:

MEAN [U/l]	L = 87.80	N = 166.82	H = 398.93
S.D.	2.87	4.26	9.33
C.V.%	3.27	2.55	2.34

#### Correlation

A study based comparing this method with a similar method on 21 samples has given a correlating factor **r = 0.97**

#### BIBLIOGRAPHY

Stein, W. "Creatine kinase (total activity), creatine kinase isoenzymes and variants". In: Thomas L, ed. Clinical laboratory diagnostics. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; p. 71-80, (1998).

Recommendations of the German Society for Clinical Chemistry. "Standardization of methods for the estimation of enzyme activities in biological fluids: Standard method for the determination of creatine kinase activity". J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 15, 255-60, (1977).

Moren, L.G., Clin. Chem., 23, 1569 (1977).

Kaplan, L.A., Pesce, A..J.: "Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1996).

### SYMBOLS



Read instruction for use



CE mark (requirement of 98/79 regulation)



Storing temperature limits



In vitro medical device



Producer