

**Ambalare**

R1: 2 x 40 ml

R2: 2 x 12 ml

**Utilizare**

Kit pentru masurarea creatinkinazei in ser sau plasma.

Metoda optimizata cinetica DGKC-IFCC.

**Sumar**

Masuratorile CK se utilizeaza in diagnosticul si tratamentul infarctului miocardic si al bolilor musculare, cum ar fi distrofia musculara de tip Duchenne progresiva.

**Principiu**

Analiza cinetica. Creatinkinaza catalizeaza reactia dintre creatina fosfat si ADP, cu formare de creatina si ATP. Acesta, in prezenta glucozei si hexokinazei, este transformat in ADP si glucoza-6-fosfat care, prin interventia glucoz-6-fosfat-dehidrogenaza, formeaza fosfogluconat de glucoza in timp ce NADP+ este redus la NADPH. Activitatea CK din proba se calculeaza măsurând variatia absorbantei, datorata transformarii NADP+ in NADPH.

**Reactivi**

<b>R1</b> Buffer imidazol	pH 6,3	150,0 mmol / l
AMP		25,0 mmol/l
NADP		2,0 mmol/l
D-glucoza		25,0 mmol/l
fosfat de diadenozina		12,0 mmol/l
hexochinaza		3000 U / l
acetat de magneziu		12,0 mmol/l
N-acetil-cisteina		25,0 mmol/l
<b>R2</b> Buffer imidazol	pH 6,3	150,0 mmol / l
ADP		12,0 mmol/l
G6P-DH		10000 U / l
creatina fosfat		35,0 mmol/l

**Prepararea reactivilor**

Reactivii sunt lichizi si sunt gata de utilizare. Pentru utilizarea ca monoreactiv (procedura "sample-starter") se adauga intregul continut al unei sticle de ALT R2 in sticla ALT R1 si se amesteca usor. Pentru utilizarea minora se adauga la fiecare 4 ml de reactiv R1, 1 ml de reactiv R2. Scoateti reactivii din frigider numai pentru utilizare si inchideti imediat recipientele.

**Depozitare si stabilitate**

- Pastrati kitul la 2-8 °C.
- Dupa deschidere, flacoanele R1 si R2 sunt stabile 90 de zile daca sunt inchise imediat si protejate impotriva contaminarii, evaporarii, luminii directe si depozitate la temperatura corecta.
- Stabilitatea solutiei de lucru (R1+R2): 20 de zile la 2-8 °C.

**Precautii in utilizare**

Produsul nu este clasificat ca periculos (DLg. N. 285 art. 28 la 128/1998). Concentratia finala a componentelor este sub limitele impuse de Regulamentul (CE) nr. 1272/2008 - CLP (si amendamentele ulterioare) si Directiva 88/379 / CEE si amendamentele ulterioare la clasificarea ambalajelor si etichetarea substantelor periculoase.

Totusi, reactivul trebuie manipulat cu grija, in conformitate cu buna practica de laborator. Atentie: reactivii contin conservant azid de sodiu (0,095%). Evitati inghitirea si contactul cu pielea, ochii si membranele mucoase.

**Managementul deseurilor**

Consultati cerintele legale locale.

**Recoltarea si pregatirea probelor**

Ser sau plasma heparinizata.

- Pastrati probele protejate de lumina.

- Activitatea CK este stabila timp de 7 zile la 2-8 °C sau 30 de zile la -20 °C

**Nota**

Kitul, conform acestei metode, trebuie folosit in procedurile manuale. Pentru utilizarea automata urmati aplicatii specifice.

Evitati lumina directa, contaminarea si evaporarea.

Volumele din procedura pot fi modificate proportional.

In cazul unei reclamatii sau a unei cereri de control al calitatii, consultati numarul lotului de control al calitatii, consultati numarul lotului de pe ambalaj sau numarul lotului de pe flacoanele individuale.

**Proceduri**

Lungime de unda λ: 340 (330 ° 370) nm

Temperatura de lucru 37 °C

Cale optica 1 cm

Reactie "kinetica" (in crestere)

Aduceti reactivii la 15-25 °C inainte de a ii folosi.

**Procedura monoreactiv "sample starter"**

	BLANK	PROBA
Reactiv de lucru	1000 µl	1000 µl
Apa distilata	25 µl	-
Proba	-	25 µl

Se amesteca, apoi se incubeaza timp de 2' la 37 °C. Se masoara absorbanta probei (EC). Efectuati cel putin doua citiri la o distanta de 60'. Se calculeaza variatia absorbantiei ΔE / min din citirile efectuate.

**Procedura bireactiv "substrate starter"**

	BLANK	PROB A
Reactiv R1	800 µl	800 µl
Apa distilata	25 µl	-
Proba	-	25 µl

Se amesteca, apoi se incubeaza pentru 2' la 37 °C. Apoi adaugati:

	BLANK	PROB A
Reactiv R2	200 µl	200 µl

Se amesteca, apoi se incubeaza timp de 2' la 37 °C. Se masoara absorbanta probei (EC). Efectuati cel putin doua citiri la o distanta de 60'. Se calculeaza variatia absorbantiei ΔE / min din citirile efectuate.

**Calculare cu calibrare**
**CPK [U/l] = ΔE min proba/ ΔE min Calibrator**
**x Conc. Calibrator**
**Calcularea cu factor**

CK (U/l) = ΔE/min x 6507

Factorul si performantele reactivului sunt relationate la 37 °C, 1 cm si 340 nm.

**Valori de referinta**

Ser	Plasma (U/l)	37 °C
Adulti	Femei	24 - 170 U / l
	Barbati	24 - 195 U / l
Copii	Nou nascuti	180 - 1200 [U/l]
	≤ 5 days	195 - 700 U / l
	<6 luni	41 - 330 U / l
	>6 luni	24-229 U / l

Valorile de referinta sunt considerate orientative, deoarece fiecare laborator trebuie sa stabileasca intervale de referinta pentru

propria populatie de pacienti. Rezultatele analitice trebuie evaluate cu alte informatii provenite din istoric clinic al pacientului.

**Performante analitice**

Performanta reactivului este relationata la 37 °C, 1 cm si 650 nm

**Liniaritatea**

Reactia este liniara in intervalul de concentratie intre 10 si 1000 U / l. Probele cu valori mai mari de 1000 U / l trebuie diluate cu solutie salina. Apoi multiplicati rezultatul cu factorul de dilutie.

**Sensibilitate analitica**

Sensibilitatea testului in ceea ce priveste limita de detectie este de 10 U / l.

**Precizia intra-test;**

Determinata pe 20 de probe pentru fiecare control (N-H) (Normal-High). Rezultate:

MEDIE (U / l) N = 150,75 H = 450,85

SD N = 2,21 H = 3,76

C.V.% N = 1,47 H = 0,83

**Precizia inter-test**

Determinat pe 20 de probe pentru fiecare control (N-H). Rezultate:

MEDIE (U / l) N = 152,38 H = 449,18

SD N = 2,77 H = 5,42

C.V.% N = 1,82 H = 1,21

**Corelatie**

Un studiu bazat pe compararea acestei metode cu o metoda similara pe 20 de probe a dat un factor de corelatie r = 0,99

**y = 1.0181 x + 5.247**
**Interferente:**

Nu au fost observate interferente in prezenta urmatoarelor:

Bilirubina ≤ 25 mg / dl

Hemoglobina ≤ 200 mg / dl

Trigliceride ≤ 800 mg / dl

Acid ascorbic ≤ 25 mg / dl

Pentru o analiza cuprinzatoare a substantelor interferente, consultati publicatia Young.

**Controlul calitatii**

Este necesar ca, de fiecare data când kitul este utilizat, sa se efectueze controalele de calitate si sa se verifice daca valorile obtinute se incadreaza in intervalul de acceptare prevazut in prospect. Fiecare laborator trebuie sa isi stabileasca tinta si deviatia standard si sa adopte un program de control al calitatii pentru a monitoriza testarea in laborator.

**Bibliografie**

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).

Recommendation of the German Society of Clinical Chemistry. Standardization of methods for measurement of enzymatic 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).

Young D.S., *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, AACCPress, Washington, DC 5<sup>th</sup> ed.2000.

**Simboluri**

	Marcajul CE (Regulamentul 98/79 CE)
	dispozitiv medical in vitro
	Codul lotului
	Utilizati pâna la
	Limitele temperaturii de depozitare
	Cititi instructiunile pentru utilizare
	Swiss Pharm Import - Export