



Ref. PDI103410

CK-NAC UV LIQUIDA

Conf. 125 ml

IVD

INTRODUZIONE

La CPK è un enzima endocellulare contenuto principalmente nel muscolo scheletrico, nel miocardio e nel tessuto cerebrale. Catalizza la fosforilazione della creatina, grazie all'intervento dell'ATP, con formazione di fosfocreatina e ADP, reazione di importanza fondamentale nel metabolismo muscolare. Sono stati identificati in diagnostica tre differenti isoenzimi significativi: la CPK-BB di origine cerebrale, la CPK-MB di origine cardiaca e la CPK-MM di origine muscolo scheletrica. L'esercizio fisico, iniezioni intramuscolari profonde, delirium tremens e interventi chirurgici possono elevare i livelli di CPK. Farmaci che possono produrre un incremento di CPK sono gli anticoagulanti, la morfina, l'alcool, alte dosi di salicilati, l'anfotericina B, i clofibrati ed alcuni anestetici. E' consigliabile eseguire il prelievo a digiuno da 8 ore.

PRINCIPIO

La creatinchinasi catalizza la reazione tra creatinfosfato ed ADP, con formazione di creatina e ATP, il quale, in presenza di glucosio ed esochinasi (HK), viene ritrasformato in ADP e Glucosio-6-fosfato.

Quest'ultimo, in presenza di glucosio 6-fosfatodeidrogenasi (G-6-PDH), reagisce con NADP⁺ formando 6-fosfogluconato e NADPH. Misurando la variazione di assorbanza, dovuta alla trasformazione del NADP⁺ in NADPH, nell'unità di tempo a 340 nm si calcola l'attività del CK nel campione esaminato. La presenza di N-acetilcisteina (NAC) nella miscela di reazione permette un'ottimale riattivazione dell'enzima CK.

METODO

IFCC.

REAGENTE

Per uso diagnostico in vitro.

I reattivi, conservati a 2-8°C, sono stabili sino alla data di scadenza indicata sulla confezione.

Componenti del kit:

A) Reagente A: Tampone	1x100 ml	Ref. PDI 1034101
B) Reagente B: Substrato	1x25 ml	Ref. PDI 1034102

PREPARAZIONE del Monoreattivo

(se si lavora con la procedura monoreagente)

Miscelare una parte di Reagente 2 (Substrato Liquido) con 4 parti di Reagente 1 (Tampone). Tale soluzione rimane stabile 2 settimane, se conservata in frigo a 2-8°C o 2 giorni se conservata a temperatura ambiente (<25°C). Proteggere dalla luce diretta del sole.

CAMPIONE

Siero o plasma (eparina o EDTA). L'emolisi fino a 200 mg di Hb/dl non interferisce nella determinazione.

Concentrazione dei singoli componenti nel volume finale di reazione:

Tampone imidazolo acetato	100 mmol/l pH 6.8
Creatina fosfato	50 mmol/l
D-glucosio	20 mmol/l
Mg acetato	10 mmol/l
NAC	20 mmol/l
EDTA	1.6 mmol/l
ADP	3 mmol/l
AMP	5 mmol/l
NADP	2 mmol/l
Esochinasi	>5000 U/l
Diadenosin pentafofosfato	20 µmol/L
G-6-PDH	>7000 U/L

Conservanti e stabilizzanti.

Attenzione: contiene sodio azide (0.1%) come conservante.

CONDIZIONI OPERATIVE

Lunghezza d'onda:	340 nm
Cammino ottico:	1 cm
Temperatura di reazione:	37°C
Reazione:	cinetica

Portare i reattivi alla temperatura di lavoro prima dell'uso.

PROCEDIMENTO

Procedura Monoreagente	
Pipettare in una cuvetta termostata	
Soluzione di lavoro	200 µL
Portare i reattivi alla temperatura di lavoro prima dell'uso (2-3 minuti a 37°C)	
Campione	8 µL
Mescolare ed effettuare la prima lettura dopo 100 secondi. Ripetere la lettura più volte in un intervallo di tempo di 200 secondi. Calcolare la media D A/min trovata.	

PROCEDIMENTO

Procedura Bireagente	
Portare i reattivi alla temperatura di lavoro prima dell'uso (2-3 minuti a 37°C)	
Pipettare in una cuvetta termostata	
Reagente 1 tampone	200 µL
Campione	10 µL
Miscelare, incubare per circa 1 minuto e poi aggiungere:	
Reagente 2 Substrato	50 µL



Mescolare ed effettuare la prima lettura dopo 120 secondi. Ripetere la lettura più volte in un intervallo di tempo di 200 secondi. Calcolare la media D A/min. trovata .

CALCOLO

Moltiplicare il D A/min medio trovato per il fattore 4127 valido per le condizioni operative adottate.

VALORI NORMALI

	37°C
Uomini:	24-170 U/l
Donne:	24-140 U/l

Per attività di AE/min. superiori a 0. 100 (365nm) e a 0. 180 (340-334nm), ripetere la determinazione sul campione diluito 1:10 con soluzione fisiologica e moltiplicare poi il risultato ottenuto per 10.

CALIBRATORI E/O CONTROLLI

Per il controllo di qualità interno usare i Sieri di Controllo Umani Normali PKL od i Sieri di Controllo Umani Patologici PKL.

Si consiglia di analizzare i due livelli dei controlli almeno una volta al giorno. I valori ottenuti devono rientrare nel range specificato. Se i valori dovessero essere fuori da questo range e se un eventuale errore nell'esecuzione fosse escluso dalla ripetizione del test, è opportuno applicare i seguenti punti:

1. Controllare la programmazione dello strumento e la sorgente di luce.
2. Assicurarsi della pulizia di tutti gli strumenti usati.
3. Controllare l'acqua; eventuali contaminazioni (ad es. batterica) possono contribuire a dare risultati imprecisi.
4. Controllare la temperatura di reazione.
5. Controllare la data di scadenza del kit e del suo contenuto.

MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO

Soluzione di NaCl 9 g/l. Pipette a vario volume, spettrofotometro o fotometro da Laboratorio.

PRECAUZIONI

Il reagente contiene sodio azide come conservante (0.1 %). Non ingerire! Evitare il contatto con la pelle e le mucose. In caso di spargimento accidentale diluire con acqua.

Tali prodotti sono solo per uso professionale e vanno utilizzati da personale qualificato.

SENSIBILITA'

Il kit determina una concentrazione minima di 6 U/L di CK-NAC nel siero.

INTERFERENZE

Concentrazioni di Bilirubina fino a 12 mg/dl non determinano interferenze.

PRECISIONE

Siero Controllo	Lotto	Valore Ottenuto	Valore Teorico	Range	Recovery %
PKL Normale	182 066	202	199	159-239	98,5
PKL Abnormale	180 067	605	613	507-719	101,3
Randox Normal	186 UN	194	197	150-224	101,5
Randox Abnormal	106 UE	477	472	359-585	99,0

RIPRODUCIBILITA'

CV (%)	Livello I	Livello II	Livello III
	51 U/l	172 U/l	362 U/l
nella serie	3,50	1,62	1,00
Tra la serie	4,89	2,16	1,43

TRATTAMENTO DEI RIFIUTI

Riferirsi ai regolamenti ufficiali.

CLASSIFICAZIONE EDMA

Nome CK-NAC n:11.01.01.13.00.

BIBLIOGRAFIA

Methods of Enzymatic Analysis, (1983), 3th edition, V III Edited by H. U. , Bergmeyer, Verlag Chemie.



Ref. PDI103410

CK-NAC UV LIQUID

Conf. 125 ml

IVD

INTRODUCTION

CPK is an intracellular enzyme found mainly in skeletal muscle, myocardium and brain tissue. Catalyzes the phosphorylation of creatine, thanks to the intervention of ATP, with formation of phosphocreatine and ADP, reaction of fundamental importance in muscle metabolism. Have been identified in three different isoenzymes diagnostic significant: CPK-BB of cerebral origin, CPK-MB of cardiac origin and CPK-MM of musculoskeletal origin. Exercise, deep intramuscular injections, delirium tremens, and surgery may raise the levels of CPK. Drugs that may produce an increase of CPK are anticoagulants, morphine, alcohol, high doses of salicylates, amphotericin B, clofibrati and some anesthetics. It is advisable to pick fasted for 8 hours.

PRINCIPLE

IFCC method. The creatine kinase catalyzes the reaction between creatine phosphate and ADP, with formation of creatine and ATP, which, in the presence of glucose and hexokinase (HK), is transformed into ADP and glucose-6-phosphate. The latter, in the presence of glucose 6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH), reacts with b-NADP + to form 6-phosphogluconate and b NADPH. By measuring the change in absorbance due to the conversion of b- NADP+ in b-NADPH, in the unit of time at 340 nm is calculated CK activity in the sample. The presence of N-acetylcysteine (NAC) in the reaction mixture allows for optimal reactivation of the enzyme CK.

METHOD

IFCC.

REAGENTS

For in vitro diagnostic use. The reagents, stored at 2-8°C, are stable until the expiration date printed on the label.

Kit Components:

A) Reagent A: buffer	1x100 ml	Ref. PDI 1034101
B) Reagent B: substrate	1x25 ml	Ref. PDI 1034102

Monoreagent PREPARATION

(if you work with monoreagent procedure)

Mix one part of Reagent 2 (Liquid Substrate) with 4 parts of Reagent 1 (buffer). This solution remains stable 2 weeks, when stored in the refrigerator at 2-8 °C or 2 days when stored at room temperature (<25 °C). Protect from direct sunlight.

SAMPLE

Serum or plasma (heparin or EDTA). Hemolysis up to 200 mg Hb/dl does not interfere in the determination.

Concentration of each substance in the final reaction volume:

Imidazole acetate buffer	100 mmol/l pH 6.8
creatine phosphate	50 mmol/l
D-glucose	20 mmol/l
Mg acetate	10 mmol/l
NAC	20 mmol/l
EDTA	1.6 mmol/l
ADP	3 mmol/l
AMP	5 mmol/l
NADP	2 mmol/l
hexokinase	>5000 U/l
diadenosine pentaphosphate	20 µmol/L
G-6-PDH	>7000 U/L

Preservatives and stabilizers.

Warning: Contains sodium azide (0.1%) as preservative.

OPERATING CONDITIONS

Wavelength:	340 nm
Optical path:	1 cm
Reaction Temperature:	37°C
Reaction:	kinetic

Allow reagents to working temperature before use.

ANALYTICAL PROCEDURE

Monoreagent Procedure

Pipette in a thermostated cuvette	
Working solution	200 µL
Allow reagents to working temperature before use (2-3 minutes at 37 °C)	
Sample	8 µL
Mix and take the first reading after 100 seconds. Repeat the reading of more times in a time interval of 200 seconds. Calculate the average D A /min found.	

ANALYTICAL PROCEDURE

Bireagent Procedure

Mix and take the first reading after 100 seconds. Repeat the reading of more times in a time interval of 200 seconds. Calculate the average D A / min found.	
Pipette in a thermostated cuvette	
Reagent 1 buffer	200 µL
Sample	10 µL
Mix, incubate for about 1 minutes and then add:	
Reagent 2 Substrate	50 µL
Mix and take the first reading after 120 seconds. Repeat the reading of more times in a time interval of 200 seconds. Calculate the average D A / min. found.	

CALCULATION

Multiply the DA/min average found by the factor 4127 valid for the operating conditions.



STANDARD VALUE

	37°C
Man:	24-170 U/l
Woman:	24-140 U/l

Activities for AE/min. above 0. 100 (365nm) and to 0. 180 (340-334nm), repeat the determination on the sample diluted 1:10 with saline and then multiply the result by 10.

CALIBRATORS AND/OR CONTROLS

For internal quality control using PKL Normal Control Serum Human or PKL Pathological Control Serum Human.

It is advisable to analyze the two levels of checks at least once a day. Values obtained should fall within the specified range.

If the values should be outside this range and if any error in question was excluded from retesting, you should apply the following points:

1. Check the programming of the instrument and the light source.
2. Check cleanliness of all equipment in use.
3. Check the water contamination (eg. Bacterial) may contribute to inaccurate results.
4. Check the reaction temperature.
5. Check the expiry date of the kit and its contents.

ANCILLARY EQUIPMENT

Solution of NaCl 9 g/l. Various volume pipettes, spectrophotometer or photometer Laboratory.

PRECAUTIONS

The reagent contains sodium azide as preservative (0.1%). Do not swallow! Avoid contact with skin and mucous membranes. In case of accidental spillage dilute with water. **These products are for professional use only and should be used by qualified personnel.**

SENSIBILITY

The kit determines a minimum concentration of 6 U/L of CK-NAC in serum.

INTERFERENCES

Bilirubin concentrations up to 12 mg/dl do not cause interferences.

PRECISION

Control Serum	Lot	value obtained	value theoretic	Range	Recovery %
PKL Normal	182 066	202	199	159-239	98,5
PKL Abnormal	180 067	605	613	507-719	101,3
Randox Normal	186 UN	194	197	150-224	101,5
Randox Abnormal	106 UE	477	472	359-585	99,0

REPRODUCIBILITY

CV (%)	Level I	Level II	Level III
	51 U/l	172 U/l	362 U/l
in the series	3,50	1,62	1,00
Between sets	4,89	2,16	1,43

WASTE MANAGEMENT

Riferirsi ai regolamenti ufficiali.

CLASSIFICATION EDMA

Nome CK-NAC n:11.01.01.13.00.

BIBLIOGRAPHY

Methods of Enzymatic Analysis, (1983), 3th edition, V III Edited by H. U. , Bergmeyer, Verlag Chemie.

Ver. 002 del 07.02.2010

