

Créatine Kinase (CK) DCKC/IFCC optimisé Réactif liquide

REF : CK-MK-0520 (5x20ml)
REF : CK-MK-0605 (6x5ml)
REF : CK-MK-0610 (6x10ml)

Utilisation

Le réactif Créatine Kinase (CK) de NS BIOTEC est conçu pour la détermination diagnostic et quantitative in-vitro de la créatine kinase dans le sérum humain sur des systèmes automatisés et manuels.

Rappel

La créatine kinase (CK) est une enzyme présente dans le cœur, le cerveau et les muscles squelettiques. Ainsi, une augmentation du taux de CK circulant peut être associée à un infarctus du myocarde, une maladie vasculaire cérébrale aigue, un trauma ou une maladie des muscles squelettiques. À la suite d'un infarctus du myocarde, le taux de CK commence à s'élever 4 à 6 heures après l'apparition des premiers symptômes et atteint son maximum entre 18 et 30 heures, pour finalement revenir à son taux normal le 3^{ème} jour. CK est présente sous 3 formes isoenzymatiques différentes et elles peuvent être séparées par électrophorèse ou par chromatographie sur colonne. Chaque forme provient de différent tissu dans le corps, ce qui représente un outil pour la détermination d'un diagnostic. La méthode de ce réactif est fondée sur les recommandations DGKC et IFCC.

Méthode

Détermination cinétique fondé sur les recommandations DGKC et IFCC.

Méthode du principe

Créatine kinase (CK) catalyse la phosphorylation d'ADP, en présence de créatine phosphate pour former ATP et créatine. La concentration catalytique du taux de formation de NADPH, est déterminé à partir du taux de formation de NADPH et est mesuré à 340 nm à l'aide d'une réaction couplée 1,2 entre hexokinase (HK) et glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH).

Créatine phosphate + ADP \xrightarrow{CK} créatine + ATP

ATP + glucose \xrightarrow{HK} ADP + glucose-6-phosphate

Glucose-6-phosphate + NADP+ $\xrightarrow{G6PDH}$
6- phosphogluconate + NADPH + H+

Réactifs

Réactif 1 (pH 6.7) (Tampon/Coenzyme)

Imidazole	125 mmol/L
D-glucose	25 mmol/L
N-acétyl-L-cystéine	25 mmol/L
Acétate de magnésium	12.5 mmol/L
NADP	2.5 mmol/L
EDTA	2 mmol/L

Réactif 2 (Enzymes)

ADP	15.2 mmol/L
AMP	25 mmol/L
P1,P5-di (adenosine-5'-) penta-phosphate	103 mmol/L
Glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH)	9 KU/L
Créatine phosphate	250 mmol/L
Hexokinase (HK)	3 KU/L

Précautions et mise en garde

Ne pas ingérer ou inhaler. En cas de contact avec les yeux ou la peau, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau et du savon. En cas de blessures sévères, consulter un médecin immédiatement.

Stockage et stabilité

Les réactifs sont stables jusqu'à la date d'expiration mentionnée sur les fioles, si conservés de manière appropriée à 2-8°C. Une fois ouvert, le réactif est stable durant 2 mois à la température indiquée.

Ou préparer la solution de travail selon le nombre de test requis en mélangeant 4 volumes de R1 et 1 volume de R2.
Stabilité : 2 semaines à 2-8°C à l'abri de la lumière.

Collecte de l'échantillon et conservation

Du sérum non-hémolysé ou du plasma hépariné. Stable 2 jours à 20-25°C, 7 jours à 2-8°C, 4 semaines -20°C à l'abri de la lumière.

Paramètres du système

Longueur d'onde	340 nm (334-365 nm)
Cuvette	1 cm
Type de réaction	Cinétique
Sens de la réaction	Croissant
Échantillon : Réactif rapport	1 : 25
ex : volume du réactif	1 ml
volume échantillon	40 µl
Température	37°C
Temps d'équilibrage	60 secondes
Temps de lecture	1 à 3 minutes
Réglage du zéro	Contre l'air
Sensibilité	1 U/L
Linéarité	2000 U/L

Procédure

1. Pipeter dans une cuvette thermostatée :

Solution de travail	0.5 ml
Sérum	20 µL

2. Mélanger et incubé 60 secondes.

3. Lire l'absorbance initiale (A) de l'échantillon, commencer le chronomètre et lire l'absorbance des intervalles de 1 minutes, pour une durée de 3 minutes.

4. Calculer la différence entre les absorbances puis la moyenne des différences entre absorbances par minutes ($\Delta A/\text{min}$).

Calcul

$\Delta A/\text{min} \times 4127 = \text{CK en U/L}$.

Unité : Une unité internationale (UI) représente la quantité d'enzyme qui transforme 1 μmol de substrat par minute, dans des conditions standards. La concentration est exprimée en unité par litre d'échantillon (U/L).

Valeurs recommandées

Hommes	24-204 U/L
Femmes	24-173 U/L

Contrôle de qualité

Des contrôles de sérum commerciaux dont les concentrations sont connus, aussi bien normal qu'anormal, devraient être réalisés avec chaque test.

Performance de la méthode

Précision

Intra-série (répétabilité)

	Niveau 1	Niveau 2
n	20	20
Moyenne (U/L)	86	616
CV %	2.8	1.0

Inter-série (reproductibilité)

	Niveau 1	Niveau 2
n	20	20
Moyenne (U/L)	77	624
CV %	2.5	0.8

Méthode de comparaison

Une comparaison entre le réactif CK de NS BIOTEC et un réactif commercial, suivant la même méthodologie, a été réalisée sur 20 sérums humains. Une corrélation de 0.983 a été obtenue.

Sensibilité

Lorsqu'il est utilisé tel que recommandé, le seuil de détection est de 1 U/L.

Linéarité

La réaction est linéaire jusqu'à une concentration de CK de 2000 U/L. Les échantillons présentant une concentration plus élevée doivent être dilués : 1V+2V en utilisant une solution physiologique saline. Répéter l'essai et multiplier le résultat par 3.




Interférences :

Pas d'interférences liées à :

- l'hémoglobine jusqu'à une concentration de 5 g/L,
 - la bilirubine jusqu'à une concentration de 20 mg/dL
 - les triglycérides jusqu'à une concentration de 7 mmol/L.
- D'autres médicaments et substances peuvent interférer^{3,4}.

Références

1. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 7: IFCC method for creatine kinase. JIFCC 1989; 1: 130-139.
2. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1999.
3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.

 NS BIOTEC MEDICAL EQUIPMENT 66 Port Said St., Camp Shezar Alexandria – Egypt Tele: 002 03 592 0902 Fax : 002 03 592 0908 Website: www.nsbiotec.com E- mail : info@nsbiotec.com	  CMC Medical Devices & Drugs S.L. C/ Horacio Lengo, 18. 29006. Málaga, Spain
---	---