

Réactif de la CK-NAC – flacon unique IFCC

(Créatine Kinase, activée par la N-acétyl cystéine)

CARACTÉRISTIQUES DU PRODUIT

Stabilité	: 7 jours entre 2 et 8 °C
Limites de linéarité	: Jusqu'à 1500 U/L
Nature de l'échantillon	: Sérum
Méthode	: Cinétique
Préparation du réactif	: Ajouter le volume spécifié de tampon.

IVD

UTILISATION PRÉVUE

Ce réactif est prévu pour la quantification in vitro de la CK (ATP : créatine N-phosphotransférase, EC 2.7.3.2) dans le sérum humain sur des systèmes manuels ou automatisés.

INTERET CLINIQUE

La créatine kinase (CK) est une enzyme dimère composée de deux types de sous-unités monomères, M (musculaire) et B (cerveau) qui se combinent pour former trois isoenzymes CK distincts, CK-1 (BB), CK-2 (MB) et CK-3 (MM). La proportion principale de l'activité totale de la CK se trouve dans le muscle squelettique et c'est majoritairement l'isoforme CK-3. D'autres tissus contenant des niveaux relativement élevés de CK, parmi eux le myocarde, comprenant environ 40% d'isoforme CK-2, le tractus gastro-intestinal et le cerveau où l'isoforme CK-1 prédomine. Des dommages ou une maladie de l'un de ces tissus tels que la dystrophie musculaire, l'infarctus du myocarde et l'accident vasculaire cérébral aigu, provoqueront des niveaux élevés de l'enzyme dans le sang.

PRINCIPE DE LA METHODE^{1,2,3}

La CK-NAC, réactif en flacon unique IFCC est basé sur les principes de la procédure recommandée par l'IFCC. La série des réactions impliquées dans le système de dosage est la suivante:

1) CK inactivée + NAC \longrightarrow CK réactivée

2) Créatine Phosphate + Mg-ADP \xrightarrow{CK} ATP + Créatine

3) ATP + Glucose \xrightarrow{HK} ADP + G-6-P

4) G-6-P + NADPH⁺ $\xrightarrow{G6PDH}$ 6-PG + NADPH + H⁺

5) 2ADP $\xrightarrow{AK} //$ AMP + ATP
(Inhibée par P¹P⁵-diAP et AMP)

- La CK étant rapidement inactivée dans le sérum, afin de garantir sa pleine activité catalytique, la molécule de CK doit être réactivée par un composé de thiol. Pendant la première étape, l'échantillon incubé avec la cystéine N-acétyl du composé thiol (NAC) qui réactive la molécule de CK en réduisant rapidement les composés de sulfhydryl oxydés du site actif.
- Dans la deuxième étape, le phosphate de créatine du substrat démarre une série de réactions catalysées. Dans la première de ces réactions, la CK catalyse la formation d'ATP à partir du phosphate de créatine et de l'ADP.
- L'ATP formé en 2 sert à former du glucose-6-phosphate dans une réaction catalysée par l'hexokinase.
- Le glucose-6-phosphate produit en 3 est oxydé en 6-phosphogluconate et le NADP est réduit en NADPH dans une réaction catalysée par le glucose-6-phosphate déshydrogénase.
- De l'AMP et du P¹P⁵-Di(adénosine-5'-) pentaphosphate (P¹P⁵-diAP) sont ajoutés pour inhiber l'activité de la kinase adénylate (myokinase).

Abréviations :

ADP	= Adénosine-5'-diphosphate
ATP	= Adénosine-5'-triphosphate
HK	= Hexokinase
G-6-P	= Glucose-6-phosphate
NADP ⁺	= Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
G-6-PDH	= Glucose-6-phosphate deshydrogénase
6-PG	= 6-Phosphogluconate
NADPH	= NADP réduite
AMP	= Adénosine-5'-monophosphate
AK	= Adénylate Kinase
P ¹ P ⁵ -diAP	= P ¹ P ⁵ -Di(adénosine-5'-) pentaphosphate

SYMBOLES DE L'ÉTIQUETAGE DU PRODUIT

EC REP	Représentant Autorisé		Limites de température
IVD	Utilisation en diagnostique in vitro		Utiliser jusque
LOT	Numéro de lot		ATTENTION: Consulter les instructions d'utilisation
REF	Référence catalogue		Fabriqué par
	Consulter les instructions d'utilisation	REAG B	Réactif B
REAG A	Réactif A		Contient du mercure

COMPOSITION DU RÉACTIF

Ingrédients actifs

	Concentration
AMP	5,25 mmol/L
NADP	2,2 mmol/L
P ¹ P ⁵ -diAP	10,5 µmol/L
EDTA	2,1 mmol/L
Mg ²⁺	11,6 mmol/L
ADP	2,1 mmol/L
D-Glucose	21 mmol/L
N-acetyl-L-cystéine	21 mmol/L
Hexokinase (levure)	>3 000 U/L
G-6-PDH (Ieuconostoc)	>2 000 U/L
Imidazole acétate	116 mmol/L
Phosphate de créatine	31,5 mmol/L

pH 6,75 ± 0,1 à 20 °C

PRECAUTIONS: Ne pas ingérer. Éviter tout contact avec les yeux. En cas de débordements ou de coulures rincer les surfaces affectées à l'eau. Contient du mercure. Éliminer selon les lois et règlements fédérales, locales et provinciales qui encadrent la gestion du mercure. La fiche de sécurité sur le réactif de la CK-NAC – flacon unique IFCC contient des informations plus détaillées. L'emballage de ce produit contient du caoutchouc naturel sec Manipuler avec précaution les sertissages et les fioles en verre cassées, car les bords acérés peuvent blesser l'utilisateur.

PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Reconstituez le réactif A avec le volume de tampon, le réactif B, indiqué sur l'étiquette du flacon. Mélanger doucement jusqu'à dissolution.

STABILITÉ ET CONSERVATION

Avant utilisation:

Lorsqu'il est conservé réfrigéré à 2-8 °C, le réactif est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon ou du coffret.

Réactif reconstitué:

Stocké entre 2 et 8 °C le réactif est stable pendant au moins 7 jours.

Indications de la détérioration du réactif:

- Turbidité,
- Absorbance du réactif >0,6 AU à 340 nm (chemin optique 1 cm) et/ou;
- Impossibilité d'obtenir les valeurs de contrôle dans leur fourchette de tolérance.

PRELEVEMENT ET MANIPULATION DES ECHANTILLONS¹

Sérum: Utilisation de sérum non-hémolysé.

Plasma: éviter l'utilisation du plasma contenant de l'héparine, de l'EDTA, du citrate ou du fluorure.

Conservation: la CK est stable pendant 1 jour à 4 °C. La stabilité peut varier légèrement en fonction de chaque sérum, elle dépend cependant de la distribution des isoenzymes et de l'état acide-base du patient.

MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Le cas échéant, des pipettes pour répartir précisément les volumes mesurés.
- Un analyseur de biochimie capable de maintenir une température constante (37 °C) et de mesurer une absorbance à 340 nm.
- Consommables nécessaires au fonctionnement de l'analyseur, par ex.: cupules échantillon.
- Sérum de contrôle normal et pathologique.

PROCÉDURE DE DOSAGE

Les paramètres de système suivants sont recommandés. Des applications d'instruments individuelles sont disponibles sur demande auprès du groupe de support technique.

PARAMÈTRES DU SYSTÈME

Température	37 °C
Longueur d'onde principale	340 nm (334, 365 nm)
Longueur d'onde secondaire	405nm
Type de dosage	Taux/Cinétique

Direction	Augmentation
Échantillon: taux de réactif	1 : 20
p. ex.: Volume de l'échantillon	0,05 mL
Réactif Vol.	1,0 mL
Délai/Retard	120 secondes
Temps de lecture	3 minutes
Limites du blanc du réactif	Basse 0,0 AU
(340 nm, chemin optique de 1 cm)	Haute 0,6 AU
Linéarité	Jusqu'à 1500 U/L
(voir la section linéarité)	
Sensibilité	0,30 ΔmA/min par U/L
(340 nm, chemin optique de 1 cm)	

CALCULS

Les résultats sont calculés directement par l'analyseur selon la formule suivante:

Activité en U/L = ΔAbs/min x Facteur

$$\text{Facteur} = \frac{\text{TV} \times 1000}{6,3 \times \text{SV} \times \text{P}}$$

Où : TV = Volume total de la réaction en mL
 SV = Volume de l'échantillon en mL
 6,3 = Coefficient d'absorption millimolaire du NADH à 340 nm (Voir note 4).
 P = Longueur de chemin de cuvette en cm.

Exemple: ΔAbs/min = 0,027
 Facteur = 3333
 CK = 0,027 x 3333 = 90 U/L

REMARQUES

- Les volumes de réactifs et d'échantillon peuvent être modifiés en respectant leur proportionnalité afin de s'adapter aux caractéristiques de chaque analyseur de biochimie.
- Si la modification de l'absorbance est supérieure à 0,45/min, refaire le dosage avec un sérum dilué. Cependant, la fraction de volume du sérum dans le système de la réaction de la CK est critique. Les modifications de la fraction de volume, par exemple dans une dilution préalable de l'échantillon, ne produisent pas de modifications stoechiométriques dans le taux de réaction. Si une dilution est nécessaire, 150 mmol/L de NaCl sont recommandés. À une dilution de 1 :2, une augmentation apparente de la CK au maximum de 10% peut être prévue. Sinon, un lot de sérum sans CK peut servir pour la dilution. Le sérum sans CK peut être produit en chauffant le sérum à 56 °C pendant deux heures.
- La validité des résultats dépend de la précision de l'étalonnage de l'appareil, de la synchronisation et du contrôle de la température.
- Le coefficient d'absorption millimolaire du NADH à 334 nm = 6,18 et à 365 nm = 3,40.
- Conversion d'unité : U/L x 16,67 x 10⁻³ = μkat/L

CALIBRAGE

Non requis. Le taux de réaction est converti en U/L d'activité par un facteur de calcul. Voir la section Calcul du présent insert d'emballage.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Afin d'assurer un contrôle de qualité approprié, utiliser un contrôle normal et un contrôle pathologique au moins une fois toutes les huit heures, mais également dans les contextes suivants :

- Au moins toutes les huit heures
- Lorsqu'un nouveau flacon de réactif est utilisée.
- Après une maintenance préventive ou le remplacement d'un des composants fondamentaux de l'analyseur.

Si les résultats de contrôle ne sortent pas dans leur fourchette de tolérance, procéder alors aux actions suivantes :

- Répéter les mêmes contrôles.
- Si les résultats sont encore , en dehors de leur fourchette de tolérance préparer un sérum de contrôle frais et recommencer le test.
- Si les résultats restent hors des limites sur un matériau de contrôle frais, répéter le test avec un réactif neuf.
- Si malgré ces opérations les résultats de contrôle restent en dehors de leur fourchette de tolérance, contactez notre service Applications.

LIMITES DE LA PROCEDURE

- Les études pour déterminer le niveau d'interférence de l'hémoglobine, de la bilirubine et de la lipémie ont été effectuées avec un analyseur de biochimie automatisé. Les résultats suivants ont été obtenus:

Hémoglobine: Les échantillons hémolysés doivent être évités pour minimiser l'interférence de l'adénylate kinase et d'autres réactions

intermédiaires telles que l'ATP et la G-6-P.⁴

Bilirubine: Aucune interférence de la bilirubine jusqu'à 340 μmol/L (20 mg/dL).

Lipémie: aucune interférence avec la lipémie, mesurée comme triglycérides, jusqu'à 2,8 mmol/L (250 mg/dL).

- Young DS⁵ a publié une liste complète de médicaments et de substances pouvant interférer avec ce dosage.

VALEURS ATTENDUES⁶

À 37 °C	Hommes	≤200	(3,3 μkat/L)
	Femmes	≤180	(3,0 μkat/L)
À 30 °C	Hommes	≤130	(2,1 μkat/L)
	Femmes	≤113	(1,9 μkat/L)

Les valeurs indiquées ne représentent que la plage prévue pour cette méthode et ne sont que des indications. Il est recommandé à chaque laboratoire de vérifier sa plage ou de dériver un intervalle de référence pour la population qu'il sert.⁷

*Résultats calculés avec une conversion de la température de 0,625 pour 30 °C. Thermo ne recommande pas une utilisation habituelle des facteurs de compensation de la température.

MESURES

Les données suivantes ont été obtenues avec le réactif de la CK-NAC en flacon unique IFCC sur un analyseur de biochimie automatisé.

IMPRÉCISION

L'imprécision a été évaluée sur une période de 20 jours avec deux niveaux de contrôle commercial et en respectant la procédure NCCLS EP5-T⁸.

Dans la session	NIVEAU I	NIVEAU II
Nombre de points de données	80	80
Moyenne (U/L)	134	393
SD (U/L)	4,3	5,2
CV (%)	3,2	1,3
D'un jour à l'autre	NIVEAU I	NIVEAU II
Nombre de points de données	80	80
Moyenne (U/L)	134	393
SD (U/L)	5,2	16,3
CV (%)	3,9	4,1

COMPARAISON DE METHODES

Des études comparatives ont été menées avec un réactif de l'CK-NAC du commerce similaire comme référence. Des échantillons de sérum ont été dosés en parallèle et les résultats comparés par régression du moindre carré. Les statistiques suivantes ont été obtenues.

Nombre d'échantillons en double	60
Plage de mesures des échantillons	17 - 749 U/L
Moyenne des mesures (référence)	148 U/L
Moyenne des résultats de l'CK-NAC	147 U/L
Pente	1,01
Coordonnées à l'origine	-1,15 U/L
Coefficient de Corrélation	0,990

LINÉARITÉ

Effectué selon les recommandations, le dosage est linéaire jusqu'à 1500 U/L.


SENSIBILITÉ

Utilisé selon les prescriptions, la sensibilité de ce dosage est de 0,30 ΔmA/min par U/L.

RÉFÉRENCES

- Harder M., Elser R.C., Gerhardt W., et al. Journal of the IFCC 1989; 1:130-8.
- Strömme J.H., Theodorsen L., Hørdler M., et al. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1976; 36:711-23
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Burtis CA and Ashwood ER (Eds). Second Edition, WB Saunders Company, 1994.
- Burtis CA, Ashwood ER, "Tietz textbook of Clinical Chemistry" Second Edition, 1994; 805.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests. Third Edition, 1990: 3:120-122
- Bais R, et al. Pathology 1988; 20:367-72.
- Wachtel M et al. Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.
- National Committee of Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices NCCLS 1984; NCCLS publication EP5-T.

© 2008 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. ILab 600 is a registered trademark of Instrumentation Laboratory Company, Lexington, MA 02421. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

 Fisher Diagnostics
 a division of Fisher Scientific Company, LLC
 a subsidiary of Thermo Fisher Scientific Inc.
 Middletown, VA 22645-1905 USA
 Phone: 800-528-0494
 540-869-3200
 Fax: 540-869-8132

 MDCI Ltd.
 Arundel House
 1 Liverpool Gardens
 Worthing, West Sussex BN11 1SL UK



REF	Information Commandes		
	No de Catalogue	REAG A	REAG B
	TR14110	20 x 10 mL	1 x 200 mL
	TR14115	20 x 20 mL	2 x 200 mL
	TR14103	10 x 50 mL	1 x 500 mL
	TL14101 (ILab 600)	20 x 20 mL	1 x 400 mL