

REF 10222-4 4 x 23 ml/ 6 ml

CRÉATINE KINASE (CK)

Chaque cartouche contient un volume utilisable de 23 ml de réactif R1 et 6 ml de réactif R2.

UTILISATION PRÉVUE

Le réactif CK EasyRA permet de déterminer la quantité de créatine kinase (CK) dans le sérum humain ou le plasma humains (avec de l'héparine de lithium comme anticoagulant), grâce à « l'analyseur de chimie clinique Medica EasyRA® ». Les mesures de la CK permettent le diagnostic et le traitement de l'infarctus du myocarde et de maladies musculaires telles que la myopathie de Duchenne. Pour diagnostic *in vitro* uniquement. Réservé à un usage professionnel.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

La créatine kinase est une enzyme dont la fonction physiologique est de catalyser la transformation d'un groupe phosphate entre l'adénosine triphosphate (ATP) et la créatine. L'essentiel de la créatine kinase de l'organisme est contenu dans les cellules musculaires. L'activité sérique de la créatine kinase s'est avérée utile dans l'évaluation des affections cardiaques et musculo-squelettiques. Des taux sériques de créatine kinase supérieurs à la normale peuvent indiquer des lésions musculaires au niveau du cœur ou d'autres tissus provoquées par une maladie chronique ou une lésion musculaire aiguë.¹ La créatine kinase catalyse la phosphorylation réversible de la créatine par l'ATP. À un pH neutre, la réaction inverse se produit avec la formation d'ATP à partir de créatine phosphate. La méthode cinétique de dosage utilisée est celle de Szasz² (version optimisée de la procédure utilisée par Rosalki³). Cette méthode fait appel à des réactions enzymatiques successives dans lesquelles la créatine phosphate intervient en tant que substrat.

PRINCIPE DE LA PROCÉDURE

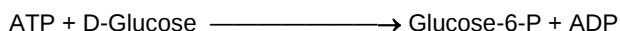
La créatine kinase catalyse le transfert réversible d'un groupe phosphate entre la créatine phosphate et l'ADP qui forme l'ATP.

Créatine
kinase

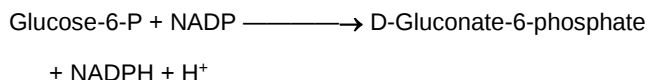


La formation d'ATP est mesurée à l'aide de deux réactions liées, dans lesquelles interviennent l'hexokinase (HK) et la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH). Le taux de réduction du nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADP) en NADPH est mesuré par une méthode spectrophotométrique, avec une augmentation de l'absorbance à 340 nm.

hexokinase



G6PDH



Le taux de formation du NADPH est directement proportionnel à l'activité de la CK de l'échantillon.

RÉACTIFS

Réactif R1 (tampon réagissant à la CK) :

Tampon imidazole (pH 6,7)	100 mmol/l
D-glucose	20 mmol/l
N-acétyl-L-cystéine	20 mmol/l
Acétate de magnésium	10,0 mmol/l
NADP	2,0 mmol/l
EDTA	2,0 mmol/l
Hexokinase (levure de boulanger)	2500 U/l

Réactif R2 (substrat réagissant à la CK) :

Tampon imidazole (pH 6,7)	100 mmol/l
Créatine phosphate	30 mmol/l
ADP	2,0 mmol/l
AMP	5,0 mmol/l
Diadénosine pentaphosphate	10,0 µmol/l
Glucose-6-PDH (levure de boulanger)	1500 U/l
EDTA	2,0 mmol/l

PRÉCAUTIONS

1. Les bonnes pratiques de sécurité en laboratoire doivent être respectées lors de la manipulation des réactifs de laboratoire. (CLSI, GP17-A2).
2. Les réactifs contiennent moins de 0,1 % d'azoture de sodium. Néanmoins, cette substance peut réagir violemment au contact du plomb et du cuivre contenus dans le système de plomberie, et former des azides métalliques explosifs. Consulter la fiche de données de sécurité pour obtenir des informations sur les risques, les dangers et la sécurité.
3. Comme pour toute procédure de test diagnostique, l'interprétation des résultats doit tenir compte des résultats de tous les autres tests ainsi que de l'état clinique du patient.
4. Ne pas utiliser de cuvettes abîmées.

INSTRUCTIONS CONCERNANT LA MANIPULATION, LE STOCKAGE ET LA STABILITÉ DU RÉACTIF

Le réactif est fourni prêt à l'emploi. Le réactif non ouvert est stable jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette, à condition d'être stocké entre 2 et 8 °C. Le réactif ouvert, conservé à bord de l'analyseur EasyRA dans le compartiment réfrigéré du réactif, est stable pendant le nombre de jours programmés dans la puce RFID sur la cartouche de réactif. Ne pas utiliser le réactif s'il est trouble ou nuageux, ou s'il ne parvient pas à retrouver les valeurs de contrôle sérique connues.

PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS, STOCKAGE/ STABILITÉ

Utiliser du plasma ou du sérum clair non hémolysé. Passer à la centrifugeuse et extraire le sérum le plus tôt possible après le prélèvement. La CK sérique est stable pendant 3 jours entre 2 et 8 °C. Des tubes enduits d'héparine de lithium peuvent être utilisés pour le prélèvement du plasma.

PROCÉDURE**Matériel fourni**

Cartouche de réactif Medica CK, Réf. 10222

Matériel auxiliaire nécessaire

Medica EasyQC®, Niveau A – Chimie/Électrolytes, Réf. 10793

Medica EasyQC, Niveau B – Chimie/Électrolytes, Réf. 10794

Cartouche de colorant pour test de précision Medica, Réf. 10764

Cartouche de nettoyant Medica – Chimie et électrodes sélectives, Réf. 10660 *ou*

Cartouche de nettoyant Medica – Chimie, Réf. 10661

Mode d'emploi

Le réactif est fourni prêt à l'emploi. Retirer le bouchon et placer le réactif dans le plateau de l'analyseur EasyRA, situé dans le compartiment approprié de la cartouche. La stabilité du réactif à bord (60 jours maximum) est programmée dans la puce RFID sur la cartouche de réactif.

Remarque : vérifier l'absence de mousse au niveau des collets de la cartouche après avoir retiré les bouchons et placé la cartouche sur l'analyseur EasyRA. S'il y a de la mousse, procéder à son élimination à l'aide d'un écouvillon ou d'une pipette jetable avant d'effectuer le test. Utiliser des écouvillons ou pipettes jetables différents pour R1 et R2.

Étalonnage

Non applicable.

Contrôle de qualité

Il est recommandé d'inclure deux niveaux de contrôle (normal et anormal) à chaque dosage quotidiennement, à chaque test patient et à chaque changement de numéro de lot de réactifs. Si les résultats du matériel de contrôle du dosage ne correspondent pas à l'intervalle de valeurs attendues, cela peut indiquer la présence d'une dégradation du réactif, d'un mauvais fonctionnement de l'instrument ou d'erreurs survenues au cours de la procédure. Le laboratoire doit respecter les réglementations locales, d'état et fédérales en matière de contrôle de qualité, lorsqu'il en utilise le matériel.

Résultats

Une fois le dosage terminé, l'analyseur EasyRA calcule la concentration en créatine kinase à partir des modifications de l'absorbance par minute, du volume de l'échantillon, du volume réactionnel total, de la longueur de cheminement (cm) de 0,6 et de l'absorptivité molaire de 6,22.

$$CK \text{ (U/l)} = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{Volumetotal}(\mu\text{l}) \times 1000)}{(\text{Absorptivité molaire} \times \text{Longueur de cheminement (cm)} \times \text{Volume de l'échantillon}(\mu\text{l}))}$$

L'activité de la créatine kinase, mesurée en unité par litre (U/l), représente la quantité enzymatique responsable de l'oxydation de 1 $\mu\text{mol/l}$ de NADP par minute.

Valeurs attendues ⁴

L'intervalle des valeurs de référence pour la CK dans le sérum et dans le plasma est le suivant :

	37 °C
Homme adulte :	de 24 à 195 U/l
Femme adulte :	de 24 à 170 U/l

Ces valeurs sont fournies à titre indicatif. Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir son propre intervalle de valeurs attendues, compte tenu des différences qui existent entre les instruments, les laboratoires et les populations locales.

Limites de la procédure (si les valeurs de l'échantillon sont au-dessus de la limite supérieure de l'intervalle, par exemple)

Éviter d'utiliser des échantillons de plasma ou de sérum hémolysé.

Si les modifications de l'absorbance par minute ($\Delta A/\text{Min}$) sont supérieures à 0,20, correspondant à environ 1200 U/l, l'analyseur le signal par les lettres « SD » (déplétion du substrat). Les modifications de l'absorbance par minute supérieures à cette valeur sont situées en dehors de l'intervalle de linéarité du test. Si l'icône de « répétition » est sélectionnée par l'opérateur, l'échantillon peut être à nouveau testé avec la moitié (1/2) de son volume. Le calcul des résultats issus de la répétition du test prend en compte la diminution de la taille de l'échantillon. Cela aura pour conséquence d'allonger l'intervalle rapporté du dosage de la créatine kinase jusqu'à 2 400 U/l.

CARACTÉRISTIQUES DES PERFORMANCES ⁵

Intervalle rapporté

L'intervalle rapporté est compris entre 7 et 1200 U/l. Il est compris entre 7 et 2400 U/l lorsque la moitié de l'échantillon est utilisée (dilution à 1:1).

Inexactitude / corrélation (CLSI, EP9-A2)

Le tableau suivant regroupe les données obtenues lors d'une comparaison de la performance entre le réactif Créatine kinase Medica (y) avec l'analyseur EasyRA (y) et un réactif Créatine kinase semblable (x) avec l'analyseur Roche COBAS MIRA. Les données fournies ci-dessous correspondent à des dosages uniques obtenus sur l'analyseur EasyRA *versus* la moyenne des valeurs d'échantillons déterminés en double sur l'analyseur COBAS MIRA.

Nombre d'échantillons	54	Intervalle d'échantillons	7 à 1182 U/l
Courbe	1,0185	Intersection avec l'axe des Y	5,5223
Coefficient de corrélation	0,9912	Équation de régression :	$Y = 1,0185 \cdot X + 5,5223$

Le tableau suivant regroupe les données obtenues en comparant des échantillons équivalents de sérum (x) et de plasma (y) à l'aide du réactif Medica CK sur l'analyseur EasyRA. Les données ci-dessous comparent un dosage unique du plasma *versus* la moyenne des valeurs d'échantillons de sérum déterminées en double.

Nombre d'échantillons	53	Intervalle d'échantillons	de 10 à 931 U/l
Courbe	1,0081	Intersection avec l'axe des Y	-4,0906
Coefficient de corrélation	0,9986	Équation de régression :	$Y = 1,0081 \cdot X - 4,0906$

* Cobas Mira est une marque déposée de Roche Diagnostics Operations, INC., Indianapolis, IN.

Imprécision (CLSI, EP5-A2)

Des mesures doubles de chacun des trois niveaux du matériel de contrôle de qualité ont été testées deux fois par jour pendant 20 jours. La précision intra-série et la précision totale ont été déterminées à partir de ces données.

Imprécision intra-série :

Taux du contrôle de qualité U/l	DS intra-série U/l	CV intra-série %
500	4,3	0,9
191	1,6	0,9
96	1,1	1,1

Imprécision totale :

Taux du contrôle de qualité U/l	Imprécision totale DS U/l	Imprécision totale CV %
500	10,8	2,2
191	4,7	2,5
96	1,7	1,7

Linéarité (CLSI, EP6-A)

Linéarité comprise entre 3 et 1200 U/l, en fonction de la régression linéaire $Y = 0,9911 \cdot X + 17,661$.

Limite du blanc (LdB) :	1,73 U/l	(CLSI, EP17-A)
Limite de détection (LD) :	2,38 U/l	(CLSI, EP17-A)
Limite de quantification (LQ) :	6,7 U/l	(CLSI, EP17-A, modifié)

Substances interférentes (CLSI, EP7-A)

Une interférence inférieure à 10 % est désignée par « aucune d'interférence significative ».

Il existe une interférence significative pour un taux d'hémoglobine supérieur à 250 mg/dl. Éviter d'utiliser des échantillons de plasma ou de sérum hémolysé.

Aucune interférence significative n'a été observée pour un taux de bilirubine allant jusqu'à 25 mg/dl.

Aucune interférence significative n'a été observée pour un taux de triglycérides allant jusqu'à 1000 mg/dl (à l'aide du produit Intralipid®).

**Intralipid est une marque déposée de Pharmacia AB à Clayton, Caroline du Nord.*

Young fournit une liste de médicaments et autres substances qui interfèrent avec les tests cliniques chimiques.^{6,7}

RÉFÉRENCES

- 1 Quest, Vol 7(1), Feb 2000.
- 2 Szasz G. Proceedings of the Second International Symposium on Clinical Enzymology, Chicago October 1975.
- 3 Rosalki SB. *J. Lab Clin Chem* 23:646, 1977.
- 4 Tietz NW. *Clinical Guide to Laboratory Tests*. WB Saunders and Co., Philadelphia, PA, (1995) p. 180.
- 5 Documentation de Medica.
- 6 Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*, 2nd ed. Washington, DC. AACC Press; 1997.
- 7 Young, DS., Pestaner, L.C., Gibberman, V.; *Effects of drugs on clinical laboratory tests. Clin Chem* 21: 246D, 1975.

Paramètres du dosage (CK) EasyRA

Longueur d'onde (nm)	340
Mode réactionnel	Enzymatique (0)
Sens réactionnel	Croissant
Blanc du réactif	Non
Blanc de l'échantillon	Non
Modif. max du premier intervalle de l'absorbance	0,08
Durée de la réaction	5,2 min
Intervalle d'étalonnage (maximum)	N/A
Stabilité du réactif à bord	60 jours

Sérum / Plasma

Volume de l'échantillon (□l)	8,0
Volume du diluant (□l)	20
Volume du réactif R1 (□l)	128
Volume du réactif R2 (□l)	32
Emplacements décimaux (par défaut)	0
Unités (valeurs par défaut)	U/l
Facteur de dilution	1:1 (pour augmenter l'intervalle de dosage)
Linéarité	7 jusqu'à 1200 U/l
Absorptivité molaire	6,22