

REF 10222-4 4 x 23 ml/6 ml

KINAZA KREATYNOWA (CK)

Każdy z pojemników zawiera 23 ml odczynnika R1 i 6 ml odczynnika R2.

Zastosowanie

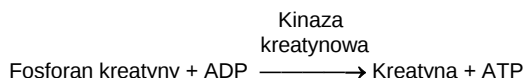
Odczynnik służy do ilościowego pomiaru CK w surowicy ludzkiej i osoczu (z użyciem heparyny litowej jako środka przeciwkrzepliwego) z użyciem analizatora MEDICA EasyRA® Clinical Chemistry Analyzer. Pomiary CK są stosowane w diagnostyce i leczeniu zawału mięśnia sercowego i schorzeń mięśni, takich jak postępującej dystrofii mięśni Duchenne'a. Wyłącznie do diagnostycznego stosowania *in vitro*. Wyłącznie do użytku zawodowego.

OPIS I OBJAŚNIENIE

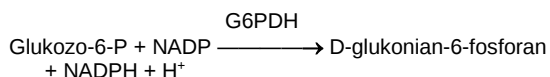
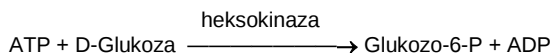
Kinaza kreatynowa jest enzymem, którego funkcją fizjologiczną jest katalizacja transferu grupy fosforanowej z trójfosforanu adenozy (ATP) do kreatyny. Większość kinazy kreatynowej w ciele znajduje się w komórkach mięśniowych. Aktywność CK w surowicy jest pomocna w diagnozowaniu chorób mięśni sercowych i szkieletowych. Podwyższone stężenie kinazy kreatynowej w surowicy może wskazywać na uszkodzenie mięśnia sercowego lub innych tkanek na skutek przewlekłej choroby lub poważnego urazu mięśni.¹ Zastrzyki domięśniowe i intensywne ćwiczenia mogą doprowadzić do podwyższenia stężenia CK w surowicy. Wyniki muszą być interpretowane z uwzględnieniem statusu klinicznego pacjenta. CK katalizuje odwracalną fosforylację kreatyny przez ATP. Przy neutralnym pH reakcja odwrótne następuje wraz z powstawaniem ATP z fosforanu kreatyny. Zastosowaną metodą pomiaru kinetycznego jest dokonana przez Szasza² modyfikacja procedury Rosalki,³ opartej na sekwencji połączonych reakcji enzymatycznych z zastosowaniem fosforanu kreatyny jako substratu.

ZASADY PROCEDURY

CK katalizuje odwracalny transfer grupy fosforanowej z fosforanu kreatyny do ADP, tworząc ATP.



Zastosowanie dwóch połączonych reakcji opartych na heksokinazie (HK) i dehydrogenazie glukozo-6-fosforanowej (G6PDH) umożliwia pomiar ATP. Prędkość redukcji fosforanu dinukleotydu nikotynamidoadeninowego (NADP) do NADPH może zostać zmierzona spektrofotometrycznie przez wzrost absorbancji przy 340 nm.



Prędkość powstawania NADPH jest wprost proporcjonalna do aktywności CK w próbce.

Odczynniki

Odczynnik buforowy CK (R1):

Bufor imidazolowy (pH 6,7)	100 mmol/l
D-glukoza	20 mmol/l
N-acetylo-L-cysteina	20 mmol/l
Octan magnezu	10,0 mmol/l
NADP	2,0 mmol/l
EDTA	2,0 mmol/l
Heksokinaza (drożdże)	2500 U/l

Odczynnik substratu CK (R2):

Bufor imidazolowy (pH 6,7)	100 mmol/l
Fosforan kreatyny	30 mmol/l
ADP	2,0 mmol/l
AMP	5,0 mmol/l
Pentafosforan diadenozyny	10,0 μmol/l
Glukoza-6-PDH (drożdże)	1500 U/l
EDTA	2,0 mmol/l

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Podczas używania dowolnego odczynnika laboratoryjnego należy przestrzegać dobrych praktyk bezpieczeństwa. (CLSI, GP17-A2).
2. Odczynniki zawierają mniej niż 0,1% azydki sodu, który może wejść w reakcję z przewodami ołowianymi lub miedzianymi, tworząc azydki metali o silnych właściwościach wybuchowych. Informacje na temat ryzyka, zagrożeń i bezpieczeństwa znajdują się w arkuszu. Dane bezpieczeństwa.
3. Tak jak w przypadku wszystkich procedur diagnostycznych, wyniki powinny zostać zinterpretowane z uwzględnieniem wyników wszelkich innych badań i statusu klinicznego pacjenta.
4. Nie używać mytych kuwet.

INSTRUKCJE DOTYCZĄCE UŻYCIA, PRZECHOWYWANIA I STABILNOŚCI ODCZYNNIKA

Odczynnik jest gotowy do użycia w dostarczonej postaci. Nieotwarty odczynnik pozostaje stabilny, aż do upływu daty ważności (na etykiecie), jeśli jest przechowywany w temp. 2 - 8°C.

Odczynnik pozostaje stabilny w komorze chłodniczej odczynników analizatora chemicznego EasyRA przez ilość dni zaprogramowaną w module RFID na pojemniku odczynnika. Nie używać odczynnika, jeśli jest mętny lub zanieczyszczony, lub jeśli wskazuje błędne wartości podczas porównania ze znanymi wartościami kontrolnymi.

POBIERANIE I PRZECHOWYWANIE / STABILNOŚĆ PRÓBEK

Należy używać czystej, niehemolizowanej surowicy lub osocza. Odwirować i usunąć surowicę jak najszybciej po pobraniu. CK w surowicy zachowuje stabilność przez 3 dni w temperaturze 2 – 8°C. Do pobrania osocza można użyć probówek powlekanych heparyną litową.

PROCEDURA

Dostarczone materiały

Pojemnik odczynnika Medica CK (Medica CK Reagent Wedge), NR REF. 10222

Wymagane materiały dodatkowe

Medica EasyQC® Chemistry/Electrolytes – Poziom A, NR REF 10793

Medica EasyQC Chemistry/Electrolytes – Poziom B, NR REF 10794

Pojemnik z barwnikiem do testu precyzji Medica (Medica Precision Test Dye Wedge), NR REF. 10764

Pojemnik ze środkiem czyszczącym Medica (Medica Cleaner Wedge – Chemistry & ISE Wedge), NR REF. 10660 lub

Pojemnik ze środkiem czyszczącym Medica (Medica Cleaner Wedge – Chemistry), NR REF. 10661

Sposób użycia

Odczynnik jest gotowy do użycia w dostarczonej postaci. Zdjąć korek i umieścić odczynnik na tacy odczynników analizatora EasyRA znajdującej się na obszarze odczynników. Stabilność podczas przechowywania w systemie (maksymalnie 60 dni) programowana jest w układzie RFID na pojemniku odczynnika.

Uwaga: Przed umieszczeniem pojemnika w analizatorze EasyRA sprawdzić, czy po zdjęciu korków wewnątrz szyjek pojemnika nie wytworzyła się piana. Jeśli pojawiła się piana, usunąć ją wacikiem lub jednorazową pipetką przed przeprowadzeniem badania. Używać oddzielnych czystych wacików lub pipetek do czyszczenia części odczynników R1 i R2.

Kalibracja

Nie dotyczy.

Kontrola jakości

Zaleca się przeprowadzanie kontroli jakości badania surowicy ludzkiej na dwóch poziomach (normalnym i abnormalnym) codziennie w przypadku badania pacjenta oraz po każdorazowej zmianie partii odczynników. Problemy z uzyskaniem odpowiedniego zakresu wartości podczas oznaczania materiału kontrolnego mogą wskazywać na degradację odczynnika, usterkę instrumentu lub błędy proceduralne. Podczas korzystania z materiałów kontroli jakości w laboratorium należy stosować lokalne, stanowe i federalne wytyczne kontroli jakości.

Wyniki

Po zakończeniu oznaczania analizator chemiczny EasyRA oblicza stężenie CK na podstawie zanotowanej zmiany absorbancji na minutę, objętości próbki, całkowitej objętości reakcji, długości ścieżki (cm) równej 0,6 i absorpcyjności molowej równej 6,22.

$$CK \text{ (U/l)} = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{Całkowita objętość } (\mu l) \times 1000)}{(\text{Absorpcyjność molowa} \times \text{Długość ścieżki (cm)} \times \text{Objętość próbki } (\mu l))}$$

Jednostka na litr (U/l) aktywności CK to ilość enzymu, która utlenia jeden $\mu\text{mol/l}$ NADP na minutę.

Przewidywane wartości⁴

Zakres referencyjny dla CK w surowicy i osoczu jest następujący:

	37°C
Dorosły mężczyzna:	24 – 195 U/l
Dorośła kobieta:	24 – 170 U/l

Wartości te stanowią wytyczne. Zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło własny zakres wartości przewidywanych, gdyż istnieją różnice pomiędzy instrumentami, laboratoriami oraz mieszkańcami różnych regionów.

Ograniczenia proceduralne (np. w przypadku wykroczenia próbki poza zakres oznaczania)

Unikać używania próbek surowicy hemolizowanej lub osocza.

Jeśli zmiana absorbancji na minutę ($\Delta A/\text{Min}$) przekracza 0,20, co odpowiada w przybliżeniu 1200 U/l, analizator oznaczy test jako „SD” (wyczerpanie substratu). Zmiany absorbancji na minutę powyżej tej wartości wykraczają poza zakres liniowy testu. W przypadku wybrania ikony „Re-run” (Uruchom ponownie), próbka może zostać ponownie zbadana przy użyciu połowy (1/2) objętości próbki. Wyniki ponownej analizy zostają obliczone z uwzględnieniem zmniejszonej objętości próbki. Spowoduje to rozszerzenie raportowanego zakresu oznaczania CK do 2400 U/l.

CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCI⁵

Zakres raportowany

Raportowany zakres wynosi od 7 do 1200 U/l. Zakres rozszerzony wynosi od 7 do 2400 U/l przy użyciu połowy próbki (roztwór 1:1).

Niedokładność/korelacja (CLSI, EP9-A2)

Poniższa tabela zawiera wyniki porównania odczynnika kinazy kreatynowej Medica (Medica Reagent for CK) (y) w analizatorze EasyRA (y) z porównywalnym odczynnikiem CK (x) w analizatorze Roche COBAS MIRA. Wartości wynosiły od 7 do 1142 U/l. Przedstawione dane to wyniki dla pojedynczych oznaczeń na analizatorze EasyRA w porównaniu z przeciętnie dwoma powielanymi wartościami uzyskanymi na analizatorze COBAS MIRA.

Ilość próbek	54	Zakres próbek	7 – 1182 U/l
Nachylenie	1,0185	Wychwytywanie y	5,5223
Współczynnik korelacji	0,9912	Równanie regresji:	$1,0185 \cdot X + 5,5223$

Następująca tabela zawiera dane uzyskane w porównaniu z dopasowanymi próbkami surowicy (x) i osocza (y), stosując odczynnik Medica dla CK w analizatorze EasyRA. Dane przedstawiają wyniki pojedynczego oznaczenia osocza w stosunku do średniej z dwóch wartości oznaczenia surowicy.

Ilość próbek	53	Zakres próbek	10 do 931 U/l
Nachylenie	1,0081	Wychwytywanie y	-4,0906
Współczynnik korelacji	0,9986	Równanie regresji	$Y = 1,0081 \cdot X - 4,0906$

* Cobas Mira to zarejestrowany znak towarowy Roche Diagnostics Operations, INC., Indianapolis, IN.

Niedokładność (CLSI, EP5-A2)

Podwójne pomiary każdego z trzech poziomów materiałów do kontroli jakości były testowane dwa razy dziennie przez 20 dni. Dane te posłużyły do ustalenia zarówno dokładności wewnątrz przebiegu, jak i całkowitej.

Niedokładność wewnątrz przebiegu:

Poz. kontr. jakości U/l	SD wewn. przebiegu U/l	CV wewn. przebiegu %
500	4,3	0,9
191	1,6	0,9
96	1,1	1,1

Niedokładność całkowita:

Poz. kontr. jakości U/l	SD niedokł. całkowita U/l	CV niedokł. całkowita %
500	10,8	2,2
191	4,7	2,5
96	1,7	1,7

Liniowość (CLSI, EP6-A)

Liniowe od 7 do 1200 U/l, na podstawie regresji liniowej $Y = 0,9911 \cdot X + 17,661$.

Granica próby ślepej (LOB):	1,73 U/l	(CLSI, EP17-A)
Granica wykrywania (LOD):	2,38 U/l	(CLSI, EP17-A)
Granica pomiaru ilościowego (LOQ):	6,7 U/l	(CLSI, EP17-A, modyfikowana)

Interferencja (CLSI, EP7-A)

Interferencja poniżej 10% została sklasyfikowana jako „brak znaczącej interferencji”.

Zanotowano znaczącą interferencję dla hemoglobiny na poziomie powyżej 250 mg/dl. Unikać używania próbek hemolizowanej surowicy i osocza.

Brak znaczącej interferencji zanotowano dla bilirubiny na poziomie poniżej 25 mg/dl.

Brak znaczącej interferencji zanotowano dla trójglicerydów na poziomie poniżej 1000 mg/dl (z zastosowaniem Intralipid®).

Intralipid jest zarejestrowanym znakiem towarowym Pharmacia AB, Clayton, NC.

Young przedstawia listę leków i innych substancji będących przyczyną interferencji w klinicznych testach chemicznych^{6, 7}.

LITERATURA

- 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 Dane własne 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.

Parametry oznaczania EasyRA (CK)

Długość fali (nm)	340
Typ reakcji	Enzymatyczna (0)
Kierunek reakcji	Rosnący
Odczynnik ślepy	Nie
Próba ślepa	Nie
Maks. zmiana abs. w pierwszym okr.	0,08
Czas reakcji	5,2 min.
Odstęp między kalibracjami (maksymalny)	Nie dotyczy
Stabilność odczynnika w systemie	60 dni

Surowica/Osocze

Obj. próbki (μl)	8,0
Obj. rozcieńczalnika (μl)	20
Obj. odczynnika R1 (μl)	128
Obj. odczynnika R2 (μl)	32
Miejsca po przecinku (domyślnie)	0
Jednostki (wartości domyślne)	U/l
Współczynnik rozcieńczenia	1:1 (zwiększającego zakres pomiaru)

Liniowość	7 – 1200 U/l
Absorpcyjność molowa	6,22