

REF 10222-4 4 x 23 ml/6 ml

CREATINCHINASI (CK)

Flaconi contenenti ciascuno 23 ml di reagente R1 e 6 ml di reagente R2.

USO PREVISTO

Il reagente EasyRA CK è indicato per la misurazione quantitativa dell'enzima Creatinchinasi (CK) in siero umano o plasma (con litioeparina come anticoagulante) utilizzando l'analizzatore chimico clinico MEDICA EasyRA. I dosaggi di CK trovano applicazione nella diagnosi e nella cura dell'infarto miocardico e di malattie muscolari quali distrofia muscolare tipo Duchenne progressiva.

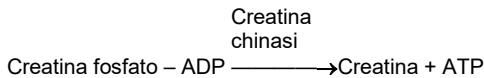
Solo per uso diagnostico *in vitro*. Solo per uso professionale.

RIEPILOGO E SPIEGAZIONE

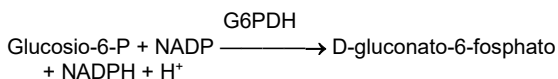
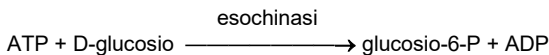
La creatinchinasi (CK) è un enzima la cui funzione fisiologica consiste nel catalizzare il trasferimento di un gruppo fosfato dall'adenosina trifosfato (ATP) alla creatina. La maggior parte della creatinchinasi nel corpo è contenuta nelle cellule muscolari. La creatinchinasi serica si è dimostrata utile nella valutazione delle patologie cardiache e muscolo-scheletriche. Valori di creatinchinasi nel siero superiori alla norma possono essere indice di danno muscolare al cuore o ad altri tessuti sia a causa di patologie croniche che di lesioni muscolari acute¹. Le iniezioni intramuscolari e l'esercizio fisico intenso possono innalzare la creatinchinasi serica. I risultati devono essere interpretati alla luce dello stato clinico del paziente. La creatinchinasi catalizza la fosforilazione reversibile della creatina attraverso l'ATP. A pH neutro, si verifica la reazione opposta con la formazione di ATP dal creatinfosfato. Il metodo di misurazione cinetica usato rappresenta la modifica di Szasz² della procedura di Rosalky³ che impiega una sequenza di reazioni enzimatiche accoppiate usando il creatinfosfato come substrato.

PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

La creatinchinasi catalizza il trasferimento reversibile di un gruppo fosfato da creatinfosfato ad ADP formando ATP.



Usando due reazioni accoppiate che impiegano esochinasi (HK) e glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PDH), è possibile misurare l'ATP. La velocità di riduzione del nicotinamide adenina dinucleotide fosfato (NADP) a NADPH può essere misurata spettrofotometricamente dall'aumento dell'assorbanza a 340 nm.



La velocità di formazione di NADPH è direttamente proporzionale all'attività della creatinchinasi nel campione.

REAGENTI

Reagente tampone per creatinchinasi (R1):

Tampone imidazola (pH 6,7)	100 mmol/l
D-glucosio	20 mmol/l
N-acetil-L-cisteina	20 mmol/l
Magnesio acetato	10,0 mmol/l
NADP	2,0 mmol/l
EDTA	2,0 mmol/l
Esochinasi (lievito)	2.500 U/l

Reagente substrato per creatinchinasi (R2):

Tampone imidazola (pH 6,7)	100 mmol/l
Creatina fosfato	30 mmol/l
ADP	2,0 mmol/l
AMP	5,0 mmol/l
Diadenosina pentaosfato	10,0 µmol/l
Glucosio-6-PDH (lievito)	1.500 U/l
EDTA	2,0 mmol/l

PRECAUZIONI

1. Seguire sempre buone prassi di sicurezza di laboratorio quando si maneggiano reagenti di laboratorio. (CLSI, GP17-A2).
2. I reagenti contengono meno dello 0,1% di azoturo di sodio, che potrebbe reagire con le tubature in rame e piombo formando accumuli altamente esplosivi di azidi metallici. Per informazioni su rischi, pericoli e sicurezza fare riferimento alle schede di sicurezza (SDS).
3. Come per qualunque altra procedura di test diagnostico, i risultati devono essere interpretati alla luce dei risultati prodotti da altri test e dello stato clinico del paziente.
4. Non utilizzare cuvette lavate.

ISTRUZIONI PER LA MANIPOLAZIONE, LA CONSERVAZIONE E LA STABILITÀ DEL REAGENTE

Il reagente viene fornito pronto all'uso. Il reagente in confezione chiusa si mantiene stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta se conservato ad una temperatura di 2 – 8 °C. Il reagente rimane stabile on-board nel vano reagenti refrigerato nell'analizzatore EasyRA per il numero di giorni programmati sul chip RFID del flacone del reagente. Non usare il reagente qualora questo si presenti torbido od opaco o nel caso in cui non riesca a recuperare i valori noti di controllo del siero.

PRELIEVO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI/STABILITÀ

È necessario usare siero o plasma pulito non emolizzato. Centrifugare ed eliminare il siero appena possibile dopo la raccolta. La creatininchinasi serica è stabile per 3 giorni ad una temperatura di 2 – 8 °C. Per la raccolta del plasma è possibile utilizzare provette con rivestimento in litio-eparina.

PROCEDURA

Materiale fornito

Flacone di reagente per creatininchinasi Medica, RIF 10222

Ulteriore materiale necessario

Medica EasyQC® Chimica/Elettroliti – Livello A, REF 10793

Medica EasyQC Chimica/Elettroliti – Livello B, REF 10794

Flacone per analisi colorimetrica di precisione Medica, RIF 10764

Flacone di detergente Medica – Chimica e ISE, RIF 10660 o

Flacone di detergente – Chimica, RIF 10661

Istruzioni per l'uso

Il reagente viene fornito pronto all'uso. Rimuovere il tappo e collocare il reagente nel piatto reagenti dell'analizzatore chimico Medica EasyRA situato nell'area reagenti refrigerata. La stabilità on-board (60 giorni massimo) è programmata sul chip RFID del flacone del reagente.

Nota: verificare che non sia presente schiuma nella parte interna del collo del flacone dopo aver rimosso il tappo e aver collocato il flacone sull'analizzatore EasyRA. Qualora fosse presente schiuma, rimuoverla con un tampone o una pipetta monouso prima di eseguire il test. Usare pipette monouso o tamponi diversi per i reagenti R1 e R2.

Calibrazione

Non applicabile.

Controllo qualità

Si consiglia di eseguire due livelli di controllo del siero umano (normale e anomalo) con l'analisi quotidianamente, ogni volta che vengono eseguiti i test di un paziente e il lotto di reagenti cambia. Il mancato raggiungimento dell'intervallo corretto di valori nel test del materiale di controllo può essere indice di deterioramento del reagente, malfunzionamento dello strumento o errori procedurali. Quando viene utilizzato il materiale di controllo qualità, il laboratorio deve inoltre attenersi alla normativa locale, nazionale e federale in materia di controllo di qualità.

Risultati

Dopo aver completato l'analisi, l'analizzatore EasyRA calcola la concentrazione di creatininchinasi dal cambiamento di assorbanza al minuto, dal volume del campione, dal volume di reazione totale, dalla lunghezza di 0,6 cm del cammino ottico e dalla assorbidità molare di 6,22.

$$CK (U/l) = (\Delta A/Min) \times \frac{(\text{volumetotale}(\mu l) \times 1000)}{(\text{assorbidità molare} \times \text{camminoottico}(cm) \times \text{volumecampione}(\mu l))}$$

Un'unità/litro (U/l) di attività della creatininchinasi è la quantità di enzima che ossida una $\mu\text{mol/L}$ di NADP al minuto.

Valori Attesi⁴

L'intervallo di riferimento per la creatinichinasi nel siero e nel plasma è il seguente:

	37° C
Maschio adulto:	24 – 195 U/l
Femmina adulta:	24 – 170 U/l

Tali valori rappresentano esclusivamente delle linee guida consigliate. Si consiglia a ciascun laboratorio di stabilire il proprio intervallo di valori attesi, in quanto esistono differenze tra strumenti, laboratori e popolazioni locali.

Limiti procedurali (ad es., se il campione è al di sopra dell'intervallo di misura)

Evitare l'uso di campioni di siero o plasma emolizzati.

Se il cambiamento di assorbanza al minuto ($\Delta A/\text{min}$) è superiore a 0,20, corrispondente all'incirca a 1.200 U/l, i risultati vengono contrassegnati con "SD" (deplezione substrato). I cambiamenti di assorbanza superiori al minuto sono al di sopra dell'intervallo lineare del test. Se l'icona di "Riesecuzione" viene selezionata, è possibile che il campione venga ritestato utilizzando la metà (1/2) del volume del campione. I risultati del test rieseguito vengono calcolati tenendo conto dell'uso di volumi inferiori del campione. In tal modo l'intervallo accettabile del test di creatinichinasi viene esteso a 2.400 U/l.

CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE⁵

Intervallo accettabile

L'intervallo accettabile è compreso tra 7 e 1200 U/l. L'intervallo esteso è compreso tra 7 e 2400 U/l quando viene usata la metà del campione (fattore di diluizione 1:1).

Imprecisione/Correlazione (CLSI, EP9-A2)

La tabella seguente elenca i dati ottenuti in un confronto del reagente per creatinichinasi Medica (y) su un analizzatore chimico Medica EasyRA con la prestazione di un reagente per creatinichinasi simile (x) sull'analizzatore Roche COBAS MIRA. I dati di seguito illustrati rappresentano le singole determinazioni ottenute sull'analizzatore chimico Medica EasyRA a fronte della media di 2 valori ripetuti ottenuti sull'analizzatore Roche COBAS MIRA.

Numero di campioni	54	Intervallo dei campioni	da 7 a 1182 U/l
Pendenza	1,0185	Intercetta y	5,5223
Coefficiente di correlazione	0,9912	Equazione di regressione:	$Y = 1,0185 \cdot X + 5,5223$

La tabella seguente elenca i dati ottenuti in un confronto di campioni abbinati di siero (x) e plasma (y) utilizzando il reagente per creatinichinasi Medica sull'analizzatore EasyRA. I dati che seguono rappresentano una sola misurazione del plasma rispetto alla media di due valori replicati del siero.

Numero di campioni	53	Intervallo dei campioni	da 10 a 931 mg/dl
Pendenza	1,0081	Intercetta y	-4,0906
Coefficiente di correlazione	0,9986	Equazione di regressione	$Y = 1,0081 \cdot X - 4,0906$

Imprecisione (CLSI, EP5-A2)

Le misurazioni duplicate di ciascuno dei tre livelli di materiale di controllo qualità sono state analizzate due volte al giorno per 20 giorni. Da questi dati sono state determinate sia la precisione intra-serie che quella totale.

Imprecisione intra-serie:

Livello QC U/l	SD intra-serie U/l	CV intra-serie %
500	4,3	0,9
191	1,6	0,9
96	1,1	1,1

Imprecisione totale:

Livello QC U/l	SD imprecisione totale U/l	CV imprecisione totale %
500	10,8	2,2
191	4,7	2,5
96	1,7	1,7

Linearità (CLSI, EP6-A)

Lineare da 7 a 1200 U/l, basata sulla regressione lineare $Y = 0,9911 \cdot X + 17,661$.

Limite di vuoto:	1,73 U/l	(CLSI, EP17-A)
Limite di rilevamento:	2,38 U/l	(CLSI, EP17-A)
Limite di quantificazione:	6,7 U/l	(CLSI, EP17-A, modificato)

Sostanze interferenti (CLSI, EP7-A)

Le interferenze inferiori al 10% sono state classificate come "non significative".

L'interferenza con livelli di emoglobina superiori a 250 mg/dl si presenta significativa. Evitare l'uso di campioni di siero o plasma emolizzati.

Con livelli fino a 25 mg/dl di bilirubina non sono state riscontrate interferenze significative.

Con livelli fino a 1000 mg/dl di trigliceridi non sono state riscontrate interferenze significative (usando Intralipid*).

*Intralipid è un marchio registrato di Pharmacia AB, Clayton, NC.

Young fornisce un elenco di medicinali e altre sostanze che interferiscono con i test chimici clinici.^{6,7}

RIFERIMENTI

- 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 Dati in archivio presso 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.

Parametri dell'analisi EasyRA (CK)

Lunghezza d'onda (nm)	340
Tipo di reazione	Enzima (0)
Direzione di reazione	Aumento
Bianco reagente	No
Bianco campione	No
Primo intervallo max. camb. assorb.	0,08
Tempo di reazione	5,2 min
Intervallo di calibrazione (massimo)	N/D
Stabilità on-board del reagente	60 giorni

Siero/Plasma

Volume del campione (µl)	8,0
Volume del diluente (µl)	20
Volume reagente R1 (µl)	128
Volume reagente R2 (µl)	32
Posizioni decimali (valori predefiniti)	0
Unità (valori predefiniti)	U/l
Fattore di diluizione	1:1 (per estendere l'intervallo di misurazione)
Linearità	7 fino a 1.200 U/l
Assorbività molare	6,22