



CREATINA CHINASI MB/ (CK-MB)

Uso previsto

Il test i-STAT® CK-MB è un test diagnostico *in vitro* per la misurazione quantitativa della massa di creatina chinasi MB in campioni di sangue intero o plasma. La misurazione della CK-MB può essere utilizzata come aiuto nella diagnosi e nel trattamento dell'infarto miocardico (MI).

Spiegazione del metodo

La cartuccia per il test i-STAT CK-MB utilizza il metodo dei test di immunoassorbimento enzimatico su due punti (ELISA). Gli anticorpi, specifici per l'epitopo esclusivo della sottounità CK-MB, che non si legano alle sottounità CK-MM o CK-BB, sono inclusi nel sensore elettrochimico costituito da un chip al silicio. Un altro punto del chip di silicio del sensore contiene un coniugato anticorpo/fosfatasi alcalina, specifico per un epitopo della sottounità B di creatina chinasi. La specificità dell'anticorpo del coniugato rispetto alla sottounità B consente al coniugato di riconoscere le sottounità CK-MB e CK-BB, ma non le sottounità CK-MM. Il campione di sangue intero o plasma viene portato a contatto con i sensori per consentire lo scioglimento del coniugato enzimatico nel campione. La CK-MB nel campione viene contrassegnata con la fosfatasi alcalina e catturata sulla superficie del sensore elettrochimico durante un periodo di incubazione di circa tre minuti. Il campione, così come il coniugato con l'enzima in eccesso, vengono rimossi dal sensore mediante lavaggio. Nel fluido di lavaggio vi è un substrato per la fosfatasi alcalina. L'enzima legato al sandwich anticorpo-antigene-anticorpo spacca il substrato rilasciando un prodotto rilevabile elettrochimicamente. Il sensore elettrochimico (amperometrico) misura questo prodotto enzimatico proporzionale alla concentrazione di CK-MB nel campione.

Contenuto

Ogni cartuccia i-STAT CK-MB è munita di una porta per il campione, di sensori per la rilevazione della CK-MB come descritto in precedenza, nonché di tutti i reagenti necessari per eseguire il test. La cartuccia contiene un tampone e dei conservanti. Di seguito è riportato un elenco di ingredienti reattivi:

Ingrediente reattivo	Origine biologica	Quantità minima
Coniugato anticorpo/fosfatasi alcalina	IgG murina : intestino bovino	0,013 µg
IgG	IgG caprina : IgG murina	4 µg
Sodio amminofenil fosfato	Non applicabile	0,9 mg
Eparina	Intestino di maiale	0,45 IU

Tracciabilità metrologica

L'analisi della creatina chinasi (CK-MB) del sistema i-STAT misura la concentrazione in volume della creatina chinasi nel plasma o nella frazione plasmatica del sangue intero venoso (in ng/mL) per l'uso diagnostico *in vitro*. I valori della creatina chinasi-MB assegnati alle soluzioni di controllo del sistema i-STAT sono tracciabili e conformi al metodo di calibrazione impiegato dall'American Association of Clinical Chemists (CK-MB umana ricombinante AACCC prodotta da Seradyn Inc.) per la standardizzazione delle analisi quantitative della creatina chinasi. Le soluzioni di controllo e di verifica della calibrazione i-STAT sono stati convalidati per l'uso solo con il sistema i-STAT, pertanto i valori assegnati non possono essere usati in sostituzione di quelli ottenuti con altri metodi. Ulteriori informazioni sulla tracciabilità metrologica possono essere richieste direttamente a Abbott Point of Care Inc.

Range rilevabile

Il test i-STAT CK-MB darà come risultato un valore compreso fra 0,0 e 150,0 ng/mL ($\mu\text{g/L}$). Per i campioni con valori superiori al range di valori rilevabili verrà visualizzato ">150,0 ng/mL" sul display dell'analizzatore.

Range di riferimento

Campioni di sangue intero e plasma provenienti da 161 donatori apparentemente sani sono stati analizzati in doppio, utilizzando tre diversi lotti di cartucce i-STAT CK-MB. Il range di risultati compreso fra lo 0 e il 95% variava fra 0,0 ng/mL ($\mu\text{g/L}$) e 3,5 ng/mL ($\mu\text{g/L}$).

Nota: ciascuna struttura deve stabilire il proprio range di riferimento per l'uso del test i-STAT CK-MB.

Importanza clinica

La misurazione della CK-MB è utile per diagnosticare gli infarti miocardici e i reinfarti nonché per determinare la gravità degli infarti.

Per essere utile ai fini diagnostici, il marker cardiaco deve essere specifico per il tessuto cardiaco, deve essere rilasciato velocemente nel flusso sanguigno con un rapporto direttamente proporzionale tra la gravità della lesione miocardica e il livello di misurazione del marker, e deve permanere nel sangue abbastanza a lungo da offrire un comodo periodo di finestra diagnostica.¹

La creatina chinasi (CK) è un enzima dimerico presente prevalentemente nei tessuti del cervello e dei muscoli. La creatina chinasi è disponibile in tre isoforme: BB, MM e MB. L'isoforma BB è presente prevalentemente nel cervello. I muscoli scheletrici contengono principalmente l'isoforma MM, con tracce di MB (stimate pari a 1-4% dell'attività della CK). Anche i muscoli cardiaci contengono principalmente l'isoforma MM, ma quantità più elevate di MB, generalmente pari al 20% dell'attività della CK.² Il siero di soggetti sani contiene generalmente l'isoforma MM e una piccola quantità di isoforma MB. Il rilascio della CK-MB nel flusso sanguigno può avvenire per molte cause, ad esempio per lesioni ai muscoli scheletrici o al miocardio.

L'incremento della CK-MB nel flusso sanguigno si verifica 4-6 ore dopo un infarto miocardico. La concentrazione raggiunge il valore picco dopo circa 24 ore e torna al valore di base dopo 36-72 ore. Poiché il livello della CK-MB non è specificatamente correlato all'attività cardiaca, i risultati di un'unica analisi non sono sufficienti per diagnosticare l'esistenza di un infarto miocardico. Gli infarti miocardici vengono generalmente diagnosticati sulla base dell'andamento delle analisi della CK-MB effettuate ogni 3 ore per un periodo di 6-9 ore oppure ad intervalli di 6-8 ore per un periodo di 24 ore.

Benché le troponine cardiache specifiche, come la troponina I (cTnI) e la troponina T (cTnT), siano considerate marker biochimici di elezione nella valutazione delle sindromi coronariche acute (ACS), compresi l'infarto miocardico con sopraslivellamento del segmento ST, l'infarto miocardico senza sopraslivellamenti del segmento ST e l'angina instabile, è possibile usare la CK-MB come marker secondario per la diagnosi degli infarti miocardici e la misurazione del grado di necrosi miocardica. Poiché i livelli della CK-MB nel sangue di soggetti sani sono normalmente bassi, qualsiasi valore superiore al 95° percentile può indicare un determinato livello di necrosi miocardica.¹ Ciascuna istituzione deve stabilire il range di riferimento applicabile alla propria popolazione di pazienti e usarla per determinare un limite adeguato indicativo di un infarto miocardico acuto.

Il documento approvato dalla European Society of Cardiology e dall'American College of Cardiology indica che nei casi clinici di reinfarto, la CK-MB è generalmente più efficace della troponina cardiaca I (cTnI) o T (cTnT) ai fini del monitoraggio degli infarti miocardici poiché la CK-MB mostra valori elevati solo per 2-4 giorni dopo un infarto miocardico, contro i 5 giorni della cTnI o i 10 giorni della cTnT.^{3,4,5,6,7} Gli studi clinici hanno dimostrato anche una stretta correlazione tra la gravità della lesione miocardica (gravità dell'infarto) dopo un infarto miocardico e l'incremento della concentrazione del volume di CK-MB nel siero.⁸ Correlazioni simili sono state osservate tra la gravità degli infarti stimati con la CK-MB e i risultati ottenuti con ecocardiografie del ventricolo sinistro.⁸

Anche altre condizioni che provocano lesioni ai muscoli scheletrici - come incidenti, traumi da contusione, ustioni gravi, attività fisica intensa o disturbi miocardici come la miocardite, che non sono secondari rispetto alla patologia ischemica dell'arteria coronarica - possono causare lesioni miocardiche e l'aumento delle concentrazioni di CK-MB del sangue. Queste condizioni devono essere esaminate quando si interpretano i risultati; è inoltre necessario valutare il livello di CK-MB unitamente ai sintomi, ai segni clinici, all'anamnesi del paziente ed ai cambiamenti registrati nell'ECG.^{1,9}

Caratteristiche

I dati Precision sono stati raccolti in siti diversi secondo le seguenti modalità: le copie di ogni controllo sono state analizzate quotidianamente per un periodo di 20 giorni, per ciascuno dei tre lotti di cartucce e per un totale di 120 cicli di test. Di seguito sono riportati i dati statistici medi.

I dati di confronto metodologico sono stati raccolti usando le linee guida CLSI EP9-A2.¹⁰ Campioni di sangue sono stati raccolti in provette eparinizzate a vuoto ed analizzati in doppio con il sistema i-STAT. Una parte del campione è stata centrifugata e il plasma così isolato è stato analizzato in doppio sul sistema i-STAT e con metodi di confronto entro 1 ora dal prelievo.

L'analisi di regressione di Deming¹¹ è stata eseguita sulla prima copia di ogni campione. Nella tabella del confronto metodologico, n corrisponde al numero di campioni nel primo gruppo di dati, Sxx ed Syy si riferiscono alle stime di imprecisione basate sulle copie rispettivamente del metodo comparativo e del metodo i-STAT. Sy.x è l'errore standard della stima ed r è il coefficiente di correlazione.*

Il confronto metodologico varia da sito a sito, a seconda delle differenze di manipolazione dei campioni, della calibrazione del metodo di confronto e di altre variabili specifiche del sito.

Gli studi sulle interferenze sono stati eseguiti in base alle linee guida CLSI EP7-A.¹²

*Si riassume di seguito come promemoria l'usuale avvertimento relativo all'impiego dell'analisi di regressione. Per ogni analisi, "se i dati vengono raccolti su un range limitato, la stima dei parametri di regressione è relativamente imprecisa e può essere soggetta a errore. Quindi le previsioni ricavate da queste stime possono non essere valide".¹⁰ Il coefficiente di correlazione, r, può essere utilizzato come guida per la valutazione dell'adeguatezza del range del metodo di confronto nel superare il problema. Orientativamente il range di dati può essere considerato adeguato se $r > 0,975$.

Dati Precision (ng/mL)

Controllo del plasma	Media	DS	%CV
Livello 1	5,9	0,7	11,9
Livello 2	25,8	2,7	10,4
Livello 3	90,1	9,0	10,0

Confronto metodologico (ng/mL)

	Abbott AxSYM
n	263
Sxx	1,84
Syy	2,66
Inclinazione	1,01
Int't	-0,19
Sy.x	3,98
Xmin	0,04
Xmax	224
r	0,994

Sensibilità analitica

La sensibilità analitica del metodo CK-MB è di 0,6 ng/mL, il livello di CK-MB più basso che si riesce a distinguere dallo zero. La sensibilità analitica viene definita come la concentrazione a due deviazioni standard da un campione con calibrazione pari a zero. La sensibilità analitica è stata stimata utilizzando liquidi di controllo contenenti < 1 ng/mL CK-MB nel corso di uno studio Precision della durata di 20 giorni, in cui tre diversi lotti di cartucce per test CK-MB sono stati analizzati in doppio utilizzando sei i-STAT Analyzer per un totale di 120 test.

Specificità analitica

Il metodo CK-MB è specifico per l'isoenzima della creatina chinasi MB. Le analisi effettuate sulle seguenti proteine muscolari hanno dimostrato che queste non influiscono sui valori della CK-MB misurata.

Reagente incrociato	Concentrazione	Reattività incrociata percentuale
CK-MM (nello scheletro)	10000 ng/mL	Non rilevabile
CK-BB (nel cervello)	100 ng/mL	Non rilevabile

Recupero

La linearità di diluizione del test i-STAT CK-MB è stata studiata utilizzando campioni di sangue intero eparinizzato e di plasma provenienti da tre donatori diversi. Per ogni donatore, sono stati preparati il campione originale con CK-MB negativa e un campione arricchito con CK-MB. Questo processo ha prodotto tre campioni di sangue intero con CK-MB positiva, successivamente sottoposti a test in doppio per ognuno dei tre lotti di cartucce i-STAT CK-MB. Questi campioni di sangue intero sono stati poi diluiti

utilizzando una massa uguale al sangue intero originale non arricchito, e sottoposti a test in doppio. Il recupero di CK-MB è stato calcolato usando i dati riferiti al campione di sangue intero.

Il plasma proveniente da questi tre donatori è stato unito in masse uguali e in tutte le combinazioni in coppia. Queste combinazioni sono state poi sottoposte a test in doppio per ognuno dei tre lotti di cartucce i-STAT CK-MB. Il recupero di CK-MB per ogni coppia è stato calcolato utilizzando la media dei sei risultati. Le percentuali di recupero sono elencate nella tabella che segue.

Sangue intero

Campione	Concentrazione (ng/mL)	Concentrazione diluita (ng/mL)	Recupero %
A	73,24	40,73	108,7%
B	8,90	6,07	101,5%
C	47,74	26,91	109,3%

Plasma

Campione	Concentrazione (ng/mL)	Concentrazione diluita (ng/mL)	Recupero %
A	73,24	—	—
B	8,90	—	—
C	47,74	—	—
A+B	—	42,17	102,7%
B+C	—	30,85	108,9%
A+C	—	63,95	105,7%

Limiti del test

La frequenza di risultati eliminati è influenzata dalla pressione atmosferica. La percentuale di risultati eliminati può aumentare ad altitudini elevate (pressione barometrica bassa) e può diventare persistente qualora l'analisi venga effettuata oltre i 2286 metri sopra il livello del mare. Nel caso in cui la mancata disponibilità dei risultati sia inaccettabile, i-STAT raccomanda di avvalersi di un metodo analitico alternativo.

I campioni provenienti da pazienti che sono stati esposti ad animali o che sono stati oggetto di procedure terapeutiche o diagnostiche che impiegano immunoglobuline o reagenti derivati da immunoglobuline possono contenere anticorpi, ad esempio HAMA o altri anticorpi eterofili, che possono interferire con i test immunodiagnostici e produrre risultati errati.¹³⁻¹⁹ È stata segnalata la generazione di anticorpi potenzialmente interferenti in risposta alle infezioni batteriche.¹³ Anche se questo prodotto contiene reagenti che minimizzano l'effetto di questi interferenti e algoritmi QC progettati per rilevarne gli effetti, la possibilità di interferenze in grado di causare risultati errati dovrebbe essere valutata con attenzione in caso di incoerenze nelle informazioni cliniche.

Campioni parzialmente coagulati possono dare letture elevate di CK-MB al di sopra del range di riferimento, nonché errori nei codici di controllo della qualità. Per evitare che ciò accada, dopo aver iniettato il campione di sangue intero in una provetta di raccolta eparinizzata, capovolgere delicatamente il campione almeno 10 volte, per garantire la miscelazione uniforme dell'anticoagulante eparina.

I campioni emolizzati grossolanamente possono provocare una riduzione dell'attività della fosfatasi alcalina, riducendo così il rilevamento di CK-MB, aumentando gli antecedenti dell'esame e/o i codici di controllo della qualità.

Gli ematocriti nel range 0-70 % PCV non influiscono sui risultati. Per i campioni con livelli di ematocriti al di sopra di questo range, è stato riscontrato un aumento dell'imprecisione del test e dei codici di controllo della qualità.

Durante l'analisi, collocare l'analizzatore su una superficie piana con il display rivolto verso l'alto. Se l'analizzatore viene spostato durante il test, è possibile che aumenti la frequenza di risultati eliminati o di codici di controllo della qualità. La posizione orizzontale viene mantenuta anche qualora l'analizzatore venga collocato nell'alloggiamento del downloader/recharger.

Test delle interferenze

Se aggiunte a un pool di plasma contenente circa 20 ng/mL di isoenzima della creatina chinasi MB, le seguenti sostanze non incidono significativamente (meno del 10%) sul metodo CK-MB, alle concentrazioni indicate

Composto	Livello dell'analisi (µmol/L se non diversamente indicato)
Acetaminofene	1660
Allopurinolo	294
Ampicillina	152
Acido ascorbico	227
Acido acetilsalicilico	3330
Atenololo	37,6
Caffeina	308
Captopril	23
Cloramfenicolo	155
Diclofenac	169
Digoxina	6,15
Dopamina	5,87
Enalaprilato	0,86
Eritromicina	81,6
Furosemide	181
Eparina di sodio	90 U/mL
Ibuprofene	2425
Dinitrato di isosorbido	636
Metildopa	71
Nicotina	6,2
Nifedipina	1156
Fentoina	198
Propranolol	7,71
Acido salicilico	4340
Teofillina	222
Verapamile	4,4
Warfarin	64,9

Bibliografia

1. Braunwald, E, et al. ACC/AHA 2002 guideline update for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients with Unstable Angina). *J Am Coll Cardiol* 2002, 40: 1366-1374.
2. D.W. Moss, A.R. Henderson, "Enzymes" in *Tietz Textbook of Clinical Chemistry – Second Edition*, C.A. Burtis and E.R. Ashwood, eds. (Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1994).
3. Apple FS, Murakami MA. Cardiac Troponin and Creatine Kinase MB Monitoring during In-Hospital Myocardial Reinfarction, *Clin Chem* 2005, 51(2): 460-463.
4. Braunwald E, Antman EM, Beasley JW, Califf RM, Cheitlin MD, Hochman JS, et al. ACC/AHA guidelines for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2000, 36: 970-1062.
5. Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee. Myocardial infarction defined – a consensus document of the joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2000, 36: 959-969.
6. Jaffe AS, Ravkilde J, Roberts R, Naslund U, Apple FS, Galvani M, et al. It's time for a change to a troponin standard. *Circulation* 2000, 102: 1216-1220.
7. Newby LK, Alpert JS, Ohman EM, Thygesen K, Califf RM. Changing the diagnosis of acute myocardial infarction: implications for practice and clinical investigations. *Am Heart J* 2002, 144: 957-980.
8. Apple FS, Sharkey SW, Falahati A, Murakami MA, Mitha N, Christensen D. Assessment of left ventricular function using serum cardiac troponin I measurements following myocardial infarction. *Clinica Chimica Acta* 1998, 272: 59-67.
9. A.S. Maisel, "Point-of-Care Diagnosis and Management of Myocardial Infarction and Congestive Heart Failure" in *Principles & Practice of Point-of-Care Testing*, G.J. Kost, ed. (Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002).
10. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline – Second Edition*. CLSI document EP9-A2 [ISBN 1-56238-472-4]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA 2002.
11. P.J. Cornbleet and N. Gochman, "Incorrect Least-Squares Regression Coefficients in Method-Comparison Analysis," *Clinical Chemistry* 25:3, 432 (1979).
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) *Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline*. CLSI document EP7-A [ISBN 1-56238-480-5]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA 2002.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Immunoassay Interference by Endogenous Antibodies; Proposed Guideline*. CLSI document I/LA30-P (ISBN 1-56238-633-6) Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-4898 USA, 2007.
14. Bjerner et al. Immunometric Assay Interference: Incidence and Prevention. *Clin. Chem.* 2002; 48:613.
15. Kricka, Interferences in Immunoassays - Still a Threat. *Clin. Chem.* 2000; 46:1037.
16. Schroff et al. Human anti-murine immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. *Cancer Res.* 1985; 45:879.
17. Primus et al. "Sandwich"-type immunoassay of carcinoembryonic antigen in patients receiving murine monoclonal antibodies for diagnosis and therapy. *Clin. Chem.* 1988: 34:261.
18. Nahm et al. Heteroantibody: phantom of the immunoassay. *Clin. Chem.* 1990; 36:829.
19. Boscata et al. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin. Chem.* 1988: 34:27.

i-STAT è un marchio commerciale registrato di Abbott Group of Companies in diverse giurisdizioni.



Abbott Point of Care Inc.
Abbott Park, IL 60064 • USA



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands



©2018 Abbott Point of Care Inc. All rights reserved. Printed in USA