

Προβλεπόμενη χρήση

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό της κινάσης της κρεατίνης MB σε ορό για μη αυτόματες ή/και αυτοματοποιημένες διαδικασίες. Rx Only.

Σύνοψη και αρχή της διαδικασίας

Η κινάση της κρεατίνης αποτελείται από διμερή μόρια που με τη σειρά τους αποτελούνται από υπομονάδες M και B subunits και υπάρχουν ως ισόένζυμα MM, MB, και BB.¹ Οι υπομονάδες M και B διαφοροποιούνται αναστολογικά. Οι CK-MM και CK-MB είναι καταμετρημένες κατά κύριο λόγο στους σκελετικούς μυς και στον μυ της καρδιάς, αντίστοιχα, ενώ η CK-BB είναι παρούσα κατά βάση στον εγκέφαλο και σε ιστούς που αποτελούνται από λέιμο.²

Μετά από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, η δραστηριότητα της CK-MB αυξάνεται σημαντικά και η αύξηση αυτή παρουσιάζει υψηλή ειδικότητα για την εργαστηριακή διάγνωση του εμφράγματος του μυοκαρδίου.^{3,4} Αν και η δραστηριότητα της ολικής CK συνήθως αυξάνεται μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου, σε ορισμένους ασθενείς αυξάνεται μόνο η δραστηριότητα της CK-MB, ενώ η ολική CK παραμένει εντός του φυσιολογικού εύρους.⁵

Η μέθοδος αυτή αποτελεί μια βελτιστοποιημένη εξέταση UV σύμφωνα με τη Γερμανική Εταιρεία Κλινικής Χημείας (DGKC) και τη Διεθνή Ομοσπονδία Κλινικής Χημείας και Εργαστηριακής Ιατρικής (IFCC).

Σε αυτήν τη διαδικασία, η δραστηριότητα της CK μετρείται με βάση την παρουσία ενός αντισώματος έναντι του μονομερούς CK-M. Αυτό το αντίσωμα αναστέλλει πλήρως τη δραστηριότητα της CK-MM και κατά το ήμισυ τη δραστηριότητα της CK-MB, ενώ δεν επηρεάζει τη δραστηριότητα της υπομονάδας B των CK-MB και CK-BB. Λόγω αμελητέων συγκεντρώσεων της CK-BB στην κυκλοφορία, η υπολειπόμενη δραστηριότητα, πολλαπλασιαζόμενη επί συντελεστή 2 αναπαριστά τη δραστηριότητα του ισονεζύμου CK-MB.

Αντιδραστήρια

CK-MB (Αντιδραστήριο R1)

Σύνθεση:	
Γλυκόζη	20,0 mmol/L
Όξινο μαγνήσιο	10,0 mmol/L
EDTA	2,0 mmol/L
Εξοκινάση	5,0 kU/L
LDH	1,5 kU/L
NAC	20,0 mmol/L
NADP	2,0 mmol/L
Ρυθμιστικό διάλυμα μιδαζόλης	50,0 mmol/L
Μονοκλωνικά αντισώματα (ποντικού) έναντι ανθρώπινης CK-M, ικανότητα αναστολής	> 2000 U/L

CK-MB (Αντιδραστήριο R2)

Σύνθεση:	
ADP	10,0 mmol/L
AMP	20,0 mmol/L
Διαδενσοϊκό πενταφωσφορικό	50,0 μmol/L
Φωσφορική κρεατίνη	150,0 mmol/L G6P-DH 20 kU/L
Ρυθμιστικό διάλυμα μιδαζόλης	50,0 mmol/L

Προφυλάξεις:

Για in vitro διαγνωστική χρήση

Πρέπει να λαμβάνονται οι φυσιολογικές προφυλάξεις για τον χειρισμό εργαστηριακών αντιδραστηρίων. Μην εκτελείτε αναρρόφηση με πιπέτα από το στόμα. Τα αντιδραστήρια περιέχουν αζίδιο νατρίου, το οποίο ενδέχεται να είναι τοξικό σε περίπτωση κατάποσης. Το αζίδιο του νατρίου μπορεί να αντιδράσει με τον μόλυβδο και τον χαλκό των υδραυλικών σωληνώσεων, σχηματίζοντας εξαιρετικά εκρηκτικά αζίδια μετάλλων. Για ενημερωμένες πληροφορίες σχετικά με τους κινδύνους ή την ασφάλεια, ανατρέξτε στο Δελτίο δεδομένων ασφαλείας υλικών. Η απόρριψη των χρησιμοποιημένων ή των ληγμένων αντιδραστηρίων πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τις απαιτήσεις του εργαστηρίου σας και της τοπικής κυβέρνησης.

Προετοιμασία Αντιδραστηρίων: Τα αντιδραστήρια R1 και R2 παρέχονται έτοιμα προς χρήση για αναλύτες που μπορούν να χορηγήσουν 2 ξεχωριστά αντιδραστήρια. Για αναλύτες χωρίς δυνατότητα χορήγησης 2 αντιδραστηρίων ή για μη αυτόματη χρήση, προετοιμάστε ένα αντιδραστήριο εργασίας με αναλογία 4 μέρη αντιδραστηρίου R1 προς 1 μέρος αντιδραστηρίου R2 (δηλαδή, 24 mL αντιδραστήριο R1 και 6 mL αντιδραστήριο R2).

Φύλαξη και σταθερότητα αντιδραστηρίου: Τα αντιδραστήρια είναι σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην αντίστοιχη ετικέτα, όταν φυλάσσονται σωστά σε θερμοκρασία 2-8°C και προστατευμένο από το φως. Και τα δύο αντιδραστήρια, R1 και R2, πρέπει να είναι διαυγή/άχρωμα. Απορρίψτε τα αντιδραστήρια εάν είναι θολά ή περιέχουν σωματίδια. Μετά την παρασκευή του και όταν είναι προστατευμένο από το φως, το αντιδραστήριο εργασίας είναι σταθερό για 2 εβδομάδες σε θερμοκρασία 2-8°C ή για 24 ώρες σε θερμοκρασία 15-30°C.

Συλλογή και αποθήκευση δειγμάτων

Όλα τα δείγματα που χρησιμοποιούνται στην εξέταση πρέπει να θεωρούνται δυνάμει μολυσματικά. Οι γενικές προφυλάξεις που ισχύουν στις εγκαταστάσεις σας πρέπει να τηρούνται για τον χειρισμό και την απόρριψη υλικών κατά τη διάρκεια της εξέτασης και μετά από αυτή. Προτιμάται η χρήση δισαιού, μη αιμολυμένου ορού. Δεν απαιτούνται ειδικά πρόσθετα ή συντηρητικά. Όποτε είναι εφικτό, τα δείγματα πρέπει να υποβάλλονται σε διαχωρισμό και ανάλυση την ημέρα της συλλογής. Φυλάσσετε τον ορό σε σωληνάρια κλεισμένα με πώμα. Η δραστηριότητα της CK-MB αναφέρεται σταθερά για έως 4 εβδομάδες, όταν φυλάσσεται σε σκοτεινό χώρο στους -20°C. Η φύλαξη σε άλλες θερμοκρασίες θα έχει αποτέλεσμα την απώλεια δραστηριότητας: μετά από 24 ώρες στους 2-8°C, < 10%, μετά από μία ώρα στους 15-30°C, < 10%. Τα δείγματα με υπερβολικά έντονη αιμόλυση δεν είναι κατάλληλα για την εξέταση καθώς ενδέχεται να περιέχουν υψηλά επίπεδα αδενλικής κινάσης, ATP και 6-φωσφορικής γλυκόζης, οι οποίες προκαλούν παρεμβολές στη δοκιμασία προσδιορισμού και οδηγούν σε ψευδή αποτελέσματα.

Παρεμβαλλόμενες ουσίες

Το ασκορβικό οξύ έως και 30 mg/dL, επίπεδα συζευγμένης χολερυθρίνης έως και 24 mg/dL, επίπεδα μη συζευγμένης χολερυθρίνης έως και 30 mg/dL και επίπεδα χολερυθρίνης έως και 1000 mg/dL δεν παρουσιάζουν καμία παρεμβολή σε αυτήν την εξέταση. Η αιμοσφαιρίνη προκαλεί παρεμβολές ακόμα και σε ελάχιστες συγκεντρώσεις (25 mg/dL).⁶ Οι Young et al⁷ έχουν αξιολογήσει τη φαρμακευτική επίδραση στα επίπεδα της CK-MB στον ορό. Στη διαδικασία που περιγράφεται ενδέχεται να υπερεκτιμηθούν οι τιμές CK-MB αν η δραστηριότητα της CK-BB στον ορό είναι πολύ υψηλή. Ωστόσο, συνήθως η CK-BB δεν παρουσιάζει δραστηριότητα σε ορό φυσιολογικών ατόμων και ασθενών με έμφραγμα του μυοκαρδίου.⁸ Ορισμένοι ερευνητές έχουν παρατηρήσει μια μακρο-μορφή της BB (ανασοσφαιρίνη σε μορφή συμπλόκου), η οποία μπορεί να μετρηθεί ως B σε αυτήν τη δοκιμασία προσδιορισμού.^{10,11,12} Υπόνοιες για παρουσία μακρο-BB στο δείγμα πρέπει να υπάρχουν αν η δραστηριότητα της CK-BB που μετρηθεί με αυτήν τη διαδικασία αναπαριστά ποσοστό άνω του 20% της δραστηριότητας της ολικής CK.

Παρεχόμενα υλικά

Αντιδραστήρια R1 και R2 CK-MB

Απαιτούμενα υλικά που δεν παρέχονται

Φασματοφωτόμετρο με δυνατότητα μετρήσεων της απορρόφησης στα 340 nm και διαδρομή φωτός 1 cm, μονάδα ή λουτρό σταθερής θερμοκρασίας 37 °C, ή κυβέτα σταθερής θερμοκρασίας Συσκεύς αναρρόφησης με πιπέτα ακριβείας, Δοκιμαστικά σωληνάρια, Χρονόμετρο διαστημάτων

Αυτοματοποιημένη διαδικασία

Εφαρμογές για αυτοματοποιημένους αναλυτές είναι διαθέσιμες επικοινωνώντας με το Τμήμα τεχνικής υποστήριξης της HORIBA Instruments Inc.

Μη αυτόματη διαδικασία

1. Αφίστε τα αντιδραστήρια και τα δείγματα να εγκλιματιστούν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος πριν από τη χρήση.
2. Προετοιμάστε το αντιδραστήριο εργασίας CK-MB σύμφωνα με τις οδηγίες (βλ. την ενότητα "Προετοιμασία αντιδραστηρίων").
3. Μηδενίστε το φασματοφωτόμετρο στα 340 nm με απεσταγμένο νερό.
4. Για κάθε δείγμα και για κάθε μάρτυρα, προσθέστε 1,0 mL αντιδραστηρίου εργασίας στην κυβέτα ή στο δοκιμαστικό σωληνάριο και επώαστε σε θερμοκρασία 37 °C επί 4 λεπτά.
5. Προσθέστε 40 μL ορού στο αντίστοιχο σωληνάριο και αναμείξτε απαλά.
6. Διαβάστε και καταγράψτε την τιμή απορρόφησης στα 5 λεπτά. Συνεχίστε την επώαση στους 37 °C και καταγράψτε ξανά την απορρόφηση στα 6, 7, 8 και 9 λεπτά. Ο ρυθμός πρέπει να είναι σταθερός.
7. Προσδιορίστε τη μέση απορρόφηση ανά λεπτό (Δ/Δλεπ.), πολλαπλασιάστε με συντελεστή 8360 (4180 x 2) για αποτελέσματα σε U/L.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Αν η κυβέτα δεν διαθέτει έλεγχο θερμοκρασίας, επώαστε τα δείγματα στους 37 °C μεταξύ των αναγνώσεων.

Βαθμονόμηση

Δεν απαιτείται βαθμονόμηση. Αν απαιτείται βαθμονόμηση από τον κατασκευαστή του οργάνου, ακολουθήστε τις κατευθυντήριες οδηγίες βαθμονόμησης για να βαθμονομήσετε τον αναλυτή σας.

Ποιοτικός έλεγχος

Για την επαλήθευση της ορθότητας και της ακριβείας, η HORIBA Medical συνιστά τη χρήση μαρτύρων του εμπορίου με τις τιμές CK-MB που υποβάλλονται σε δοκιμασία προσδιορισμού μέσω αυτής της μεθόδου. Οι μάρτυρες που περιέχουν κλάσματα μη ανθρώπινης CK-MB δεν είναι κατάλληλοι για τη συγκεκριμένη εξέταση, λόγω του μονοκλωνικού αντισώματος που χρησιμοποιείται στο αντιδραστήριο. Χρησιμοποιήστε μάρτυρες που περιέχουν αποκλειστικά ανθρώπινη CK-MB. Η δραστηριότητα CK-MB που προσδιορίζεται σε αυτά τα υλικά, μέσω αυτής της διαδικασίας, πρέπει να βρίσκεται εντός των ευρύν των μαρτύρων. Κάθε μέρα εξέτασης πρέπει να αναλύονται δύο επίπεδα μάρτυρα (Φυσιολογική/Μη φυσιολογική).

Σετ αντιδραστηρίων Pointe Creatine Kinase – MB (CK – MB)

Αποτελέσματα

Δραστηριότητα CK-B: Οι τιμές προκύπτουν βάσει του συντελεστή μικρομοριακής απόσβεσης του NADP στα 340 nm (0,00622). Μία μονάδα ανά λίτρο (U/L) δραστηριότητας CK-B είναι η ποσότητα ενζύμου που οξειδώνει ένα μολ/L NADP ανά λεπτό.

$$\text{Δραστηριότητα CK-B U/L} = \frac{\Delta A/\text{λεπ.}}{\text{Απορροφητικότητα για τον όγκο δείγματος (mL)}} \times \text{Συνολικός όγκος (mL)}$$

$$\text{Δραστηριότητα CK-B U/L} = \frac{\Delta A/\text{λεπ.}}{0,00622} \times \frac{1,040}{0,040}$$

$$\text{Δραστηριότητα CK-B U/L} = \frac{\Delta A/\text{λεπ.}}{0,00622} \times 4180$$

$$\text{Δραστηριότητα CK-MB (U/L)} = \text{Δραστηριότητα CK-B (U/L)} \times 2$$

$$\text{Δραστηριότητα CK-MB \%} = \frac{\text{Δραστηριότητα CK-MB (U/L)} \times 100}{\text{Δραστηριότητα ολικής CK (U/L)}}$$

Περιορισμοί

Αν το $\Delta A/\text{λεπ.}$ είναι μεγαλύτερο από 0,345, αραιώστε 1 μέρος δείγματος με 9 μέρη φυσιολογικού ορού και επαναλάβετε τη δοκιμασία προσδιορισμού. Πολλαπλασιάστε τα αποτελέσματα επί 10. Με αυτήν τη διαδικασία δεν έχουν καθιερωθεί τιμές CK για νεογνά.

Αναμενόμενες τιμές⁷

<24 U/L (37 °C), Η δραστηριότητα της CK-MB είναι από 6 έως 25% της δραστηριότητας της ολικής CK.

Αυτό το εύρος τιμών πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο ως κατευθυντήρια γραμμή. Συνιστάται κάθε εργαστήριο να καθορίζει το δικό του εύρος αναμενόμενων τιμών, καθώς υπάρχουν διαφορές μεταξύ οργάνων, εργαστηρίων, και τοπικών πληθυσμών.

Χαρακτηριστικά απόδοσης⁸

Σύγκριση: Μια ομάδα 90 ορών υποβλήθηκε σε δοκιμασία προσδιορισμού μέσω της μεθόδου CK-MB που περιγράφηκε και μέσω ενός παρόμοιου εμπορικού διαθέσιμου αντιδραστηρίου CK-MB. Με τη σύγκριση των αποτελεσμάτων προέκυψε συντελεστής συσχέτισης 1,00 και η εξίσωση παλινδρόμησης ήταν $y = 1,00x + 2,08$. Οι συγκριτικές μελέτες πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με τη δοκιμαστική κατευθυντήρια οδηγία της NCCLS, EP9-T.

Ακρίβεια: Η ακρίβεια εντός της ανάλυσης καθιερώθηκε μέσω 20 δοκιμασιών προσδιορισμού σε τρία διαφορετικά επίπεδα εμπορικών μαρτύρων. Οι τιμές συνολικής ακρίβειας λήφθηκαν μέσω δοκιμασίας προσδιορισμού 3 μαρτύρων του εμπορίου για 5 διαδοχικές ημέρες.

Εντός ανάλυσης

	Ορός 1	Ορός 2	Ορός 3
Μέση τιμή CK-MB (U/L)	26,7	46,6	106
Τυπ. Απόκλιση	0,70	0,85	1,03
CV (%)	2,6	1,8	1,0

Συνολική ακρίβεια

	Ορός 1	Ορός 2	Ορός 3
Μέση τιμή CK-MB (U/L)	28,2	52,7	109
Τυπ. Απόκλιση	1,05	1,66	2,32
CV (%)	3,7	3,2	2,1

Οι μελέτες ακρίβειας πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με τη δοκιμαστική κατευθυντήρια οδηγία της NCCLS, EP5-T.










Γραμμικότητα: Γραμμικό έως 175 U/L στους 37 °C. Εκτελέστηκε σύμφωνα με την κατευθυντήρια οδηγία EP6-P της NCCLS.

Ευσαιθησία: Βάσει ανάλυσης οργάνου A=0,001, η μέθοδος που παρουσιάζεται καταδεικνύει ευαισθησία 2,0 U/L.

Βιβλιογραφία

1. Dawson, DM et al., Biochem Biophys. Res. Comm 21: 346 (1965)
2. Neumeir, D: Tissue Specific Distribution of Creatine Kinase Isoenzyme, Lang, Editor, Springer Verlag, New York, 1981, 85-109
3. Wagner et al, Circulation 47 263 (1973)
4. Bais R., Crit. Rev. Clin. Lab Sci. 18 291 (1982)
5. D'Souza JP et al, Clin. Biochem. 11 204 (1978)
6. Young DS et al. Clin Chem 21 286D, 1975 (Special Edition)
7. Stein W. Strategie der klinisch-chemischen Diagnostik des frischen Myokardinfarkts. Med Welt 1985;36:572-7.
8. Manufacturer Laboratory Data.
9. Kaehmar, J.F. and Moss, D.W.: Fundamentals of Clinical Chemistry. Tiertz N.W. ed. Saunders, W.B. Co., Philadelphia, 686 (1976).
10. Lott J.A., Clin. Lab Med. 6:547 (1986).
11. Ljungdahl I., Gerhardt W., "Creatine kinase isoenzyme variants in human serum." Clin Chem 24:832, (1978).
12. Urdal P, Landaas S: "Macro-creatine kinase BB in serum, and some data on its prevalence", Clin Chem 25:461, (1979).

Υπόμνημα συμβόλων

 Χρήση έως (EEEE-MM-HH)	 LOT Παρτίδα και κωδικός παρτίδας
 REF Αριθμός καταλόγου	 Κατασκευαστής
 IVD <i>In vitro</i> διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν	 Όρια θερμοκρασίας
 Συμβουλευθείτε τις οδηγίες χρήσης	Rx Only: Χρήση μόνο με ιατρική συνταγή
 Σήμανση CE	 EC REP Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα

REF C7563



Παρασκευάζεται για την HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188



IVD



Παρασκευάζεται για την HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

EC REP

Obelis s.a.
Boulevard Général Wahis 53
1030 Brussels, BE/ΛΠΟ
Τηλ.: (32)2.732.59.54, Φαξ: (32)2.732.60.03
email: mail@obelis.net



Αντιδραστήρια πιστοποιημένα ως προς την απόδοση

Τα αντιδραστήρια της Pointe είναι πιστοποιημένα για παρασκευή σύμφωνα με καθορισμένες παραμέτρους. Οποιοδήποτε προϊόν αντιδραστήριου της Pointe δεν πληροί τις προδιαγραφές έως την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης του θα αποκαθίσταται αμέσως χωρίς χρέωση.

Αναθ. 02/22 P803-C7563-01