

Przeznaczenie

Do ilościowego oznaczania kinazy kreatynowej-MB w surowicy do procedur ręcznych i/lub automatycznych. **Tylko Rx.**

Opis i metodyka

Kinaza kreatynowa jest cząsteczką dimeryczną złożoną z podjednostek M i B i występuje jako izoenzymy MM, MB i BB.¹ Podjednostki M i B różnią się immunologicznie. CK-MM i CK-MB występują głównie odpowiednio w mięśniach szkieletowych i mięśniu sercowym, podczas gdy CK-BB występuje głównie w mózgu i tkankach składających się z mięśni gładkich.²

Po ostrym zawale mięśnia sercowego aktywność CK-MB znacznie wzrasta i to zwiększenie jest wysoce swoiste dla laboratoryjnego rozpoznania zawału mięśnia sercowego.^{3,4} Chociaż całkowita aktywność CK zwykle wzrasta po zawale mięśnia sercowego, u niektórych pacjentów wzrasta tylko aktywność CK-MB, podczas gdy całkowita CK pozostaje w normie.⁵

Ta metoda jest zoptymalizowanym testem UV zgodnie z DGKC (Niemieckie Towarzystwo Chemii Klinicznej) i IFCC (Międzynarodowa Federacja Chemii Klinicznej i Medycyny Laboratoryjnej).

W tej procedurze aktywność CK mierzy się w obecności przeciwciała przeciwko monomerowi CK-M. Przeciwciało to całkowicie hamuje aktywność CK-MM i połowę aktywności CK-MB, nie wpływając jednocześnie na aktywność podjednostki B CK-MB i CK-BB. Ze względu na znikome stężenie CK-BB w krwioobiegu pozostała aktywność pomnożona przez współczynnik 2 odpowiada aktywności izoenzymu CK-MB.

Odczynniki

CK-MB (Odczynnik R1)

Skład:	
Glukoza	20.0 mmol/L
Ocian magnezu	10.0 mmol/L
EDTA	2.0 mmol/L
Heksokinaza	5.0 kU/L
LDH	1.5 kU/L
NAC	20.0 mmol/L
NADP	2.0 mmol/L
Bufor imidazolowy	50.0 mmol/L
Przeciwciała monoklonalne (mysie) przeciwko ludzkiemu CK-M, inhibiting capacity > 2000 U/L	

CK-MB (R2 Reagent)

Skład:	
ADP	10.0 mmol/L
AMP	20.0 mmol/L
Pięcioletfosforan diadenozyny	50.0 μmol/L
Fosforan kreatyny	150.0 mmol/L
G6P-DH	20 kU/L
bufor imidazolowy	50.0 mmol/L

Środki ostrożności:

Wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.

Należy przestrzegać zwykłych środków ostrożności obowiązujących przy obchodzeniu się z odczynnikami laboratoryjnymi. Nie pipetować ustami. Odczynniki zawierają azyd sodu, który może być toksyczny w przypadku połknięcia. Azyd sodu może również reagować z ołowianymi i miedzianymi instalacjami wodociagowymi, tworząc wysoce wybuchowe azydki metali. Aktualne informacje o ryzyku, niebezpieczeństwie lub bezpieczeństwie znajdują się w Karcie Charakterystyki Substancji Niebezpiecznej. Zużyte lub przeterminowane odczynniki należy utylizować zgodnie z wymaganiami laboratorium i obowiązującymi przepisami.

Przygotowanie odczynnika: Odczynniki płynne R1 i R2 są dostarczane w postaci gotowej do użycia dla analizatorów zdolnych do dozowania 2 oddzielnych odczynników. W przypadku analizatorów, które nie umożliwiają dozowania 2 odczynników lub do użytku ręcznego, należy przygotować odczynnik roboczy w proporcji 4 części odczynnika R1 na 1 część odczynnika R2 (tj. 24 ml odczynnika R1 i 6 ml odczynnika R2).

Przechowywanie i trwałość odczynników: Odczynniki zachowują stabilność do daty ważności podanej na odpowiednich etykietach, jeśli są prawidłowo przechowywane w temperaturze 2-8°C i chronione przed światłem. Odczynniki R1 i R2 powinny być przezroczyste/bezbarwne. Wyrzucić, jeśli wygląda na mętny lub

zawiera cząstki stałe. Po przygotowaniu i zabezpieczeniu przed światłem Odczynnik Roboczy jest stabilny przez 2 tygodnie w temperaturze 2-8°C lub 24 godziny w temperaturze 15-30°C.

Pobieranie oraz przechowywanie próbek

Wszystkie próbki użyte w tym teście należy uznać za potencjalnie zakaźne. Podczas obchodzenia się z materiałami i ich usuwania w trakcie i po badaniu należy stosować uniwersalne środki ostrożności, jakie mają zastosowanie w danej placówce. Próbką z wyboru jest przezroczysta niehemolizowana surowica. Nie są wymagane żadne specjalne dodatki ani konserwanty. O ile to możliwe, próbki należy oddzielić i poddać analizie w dniu pobrania. Surowicę przechowywać w zamkniętych próbkach. Aktywność CK-MB w surowicy jest podobno stabilna przez 4 tygodnie, gdy jest przechowywana w ciemnym miejscu w temperaturze -20°C. Przechowywanie w innych temperaturach spowoduje utratę aktywności; po 24 godzinach w 2-8°C, < 10%; po jednej godzinie w 15-30°C, < 10%. Skrajnie zhemolizowane próbki nie nadają się do testu, ponieważ mogą zawierać wysoki poziom kinazy adenylanowej, ATP i glukozy-6-fosforanu, które zakłócają test i dają fałszywe wyniki.

Substancje interferujące

Kwas askorbinowy do 30 mg/dL, poziom bilirubiny sprzężonej do 24 mg/dL, poziom bilirubiny niezwiązanej do 30 mg/dL i poziom trójglicerydów do 1000 mg/dL nie wykazują zakłóceń w tym teście. Hemoglobina interferuje, nawet w minimalnych stężeniach (25 mg/dl).⁸ Young i wsp. 6 dokonali przeglądu wpływu leków na poziomy CK-MB w surowicy. Opisana procedura może zawyżać wartości CK-MB, jeśli aktywność CK-BB w surowicy jest bardzo wysoka. Jednak aktywność CK-BB jest zwykle nieobecna w surowicach zdrowych osób i pacjentów z zawałem mięśnia sercowego.⁹ Niektórzy badacze zaobserwowali makroformę BB (kompleks immunoglobulin), którą można zmierzyć jako B w tym teście.^{10,11,12} Obecność makro BB w próbce należy podejrzewać, jeśli aktywność CK-BB mierzona tą procedurą stanowi ponad 20% całkowitej aktywności CK.

Materiały dostarczane

CK-MB oraz odczynniki R1 i R2.

Materiały wymagane, niewchodzące w skład produktu

Spektrofotometr zdolny do odczytu absorbancji przy długości fali 340 nm i 1 cm drogi światła, blok lub łaźnia o stałej temperaturze, 37°C lub kuweta z kontrolowaną temperaturą. Dokładne urządzenia do pipetowania, próbki, timer interwałowy.

Procedura (Automat)

Aplikacje dla analizatorów automatycznych można uzyskać kontaktując się z Działem Wsparcia Technicznego HORIBA Instruments Inc.

Procedura (Manualna)

1. Przed użyciem należy pozwolić odczynnikom i próbkom osiągnąć temperaturę pokojową.
2. Przygotuj odczynnik roboczy CK-MB zgodnie z instrukcją (patrz rozdział Przygotowanie odczynnika).
3. Spektrofotometr zerowy przy 340 nm z wodą destylowaną.
4. Dla każdej próbki i kontroli dodać 1,0 ml odczynnika roboczego do kuwety lub próbki i inkubować w temperaturze 37°C przez 4 minuty.
5. Dodać 40 μl surowicy do odpowiedniej próbki i delikatnie wymieszać.
6. Odczytaj i zapisz absorbancję po 5 minutach. Kontynuuj inkubację w 37°C i ponownie zapisz absorbancję po 6, 7, 8 i 9 minutach. Stawka powinna być stała.
7. Określ średnią absorbancję na minutę (A/min), pomnóż przez współczynnik 8360 (4180 x 2), aby uzyskać wyniki w U/L.

NOTE: Jeśli temperatura kuwety nie jest kontrolowana, inkubuj próbki w temperaturze 37°C między odczytami.

Kalibracja

Kalibracja nie jest wymagana. Jeśli kalibracja jest wymagana przez producenta przyrządu, postępuj zgodnie z wytycznymi dotyczącymi kalibracji, aby skalibrować analizator.

Kontrola jakości

Firma HORIBA Medical zaleca stosowanie dostępnych na rynku kontroli z wartościami CK-MB oznaczanymi tą metodą w celu weryfikacji dokładności i precyzji. Kontrole zawierające frakcje CK-MB pochodzenia innego niż ludzkie nie nadają się do zastosowania w tym teście ze względu na przeciwciało monoklonalne użyte w odczynniku. Stosować kontrole zawierające wyłącznie ludzki CK-MB. Aktywność CK-MB oznaczona w tych materiałach tą procedurą powinna mieścić się w zakresach dla kontroli. Każdego dnia badania należy analizować dwa poziomy (normalny/nienormalny) kontrole.

Pointe Creatine Kinase – MB (CK – MB) Reagent Set

Wyniki

Aktywność CK-B: Wartości są wyprowadzane na podstawie mikromolowego współczynnika ekstynkcji absorpcji NADP przy 340 nm (0,00622). Jednostka na litr (U/L) aktywności CK-B to ilość enzymu, która utlenia jeden $\mu\text{mol/l}$ NADP na minutę.

$$\text{CK-B aktywność U/L} = \frac{\Delta A/\text{Min} \times \text{Obj. całkowita (mL)}}{\text{Absorpcja} \quad \text{Obj. próbki (mL)}}$$

$$\text{CK-B aktywność U/L} = \frac{\Delta A/\text{Min}}{0.00622} \times \frac{1.040}{0.040}$$

$$\text{CK-B aktywność U/L} = \frac{\Delta A/\text{Min}}{0.00622} \times 4180$$

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

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

Ograniczenia

Jeżeli $\Delta A/\text{min}$ jest większa niż 0,345, rozcieńczyć 1 część próbki 9 częściami soli fizjologicznej i powtórzyć badanie. Wynik należy pomnożyć przez 10. Przy tej procedurze nie ustalono wartości CK u noworodków.

Wartości oczekiwane⁷

<24 U/L (37°C); Aktywność CK-MB wynosi od 6 do 25% całkowitej aktywności CK. Ten zakres powinien służyć jedynie jako wskazówka. Zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło swój własny zakres oczekiwanych wartości, ponieważ istnieją różnice między instrumentami, laboratoriami i lokalnymi populacjami.

Wydajność⁸

Porównanie: Grupę 90 surowic zbadano opisaną metodą CK-MB i podobnym dostępnym w handlu odczynnikiem CK-MB. Porównanie wyników dało współczynnik korelacji 1,00, a równanie regresji było równe $y = 1,00x + 2,08$. Badania porównawcze przeprowadzono zgodnie z tymczasowymi wytycznymi NCCLS, EP9-T.

Dokładność: Precyzję wewnątrzserijną ustalono w 20 testach na trzech różnych poziomach komercyjnych kontroli. Całkowite wartości precyzji uzyskano przez oznaczenie 3 komercyjnych kontroli przez 5 kolejnych dni.

	W serii		
	Serum 1	Serum 2	Serum 3
Średnia CK-MB (U/L)	26.7	46.6	106
SD	0.70	0.85	1.03
CV (%)	2.6	1.8	1.0
	Całkowita		
	Serum 1	Serum 2	Serum 3
Średnia CK-MB (U/L)	28.2	52.7	109
SD	1.05	1.66	2.32
CV (%)	3.7	3.2	2.1

Badania precyzji przeprowadzono zgodnie z tymczasowymi wytycznymi NCCLS, EP5-T.

Liniowość: Liniowość do 175 U/L w 37°C. Wykonano zgodnie z wytycznymi NCCLS EP6-P.

Czułość: W oparciu o rozdzielczość instrumentu $A=0,001$, przedstawiona metoda wykazuje czułość 2,0 U/L.

Bibliografia

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

Symbole

Termin przydatności (RRRR-MM-DD) (LOT Numer LOT oraz kod kretekowy
REF Numer katalogowy	Producent
Wylącznie do diagnostyki <i>in vitro</i>	Zakres temperatur
Zapoznaj się z instrukcją użytkownika	Tylko R+ Wylącznie do zastosowania profesjonalnego
Znak CE	Autoryzowany przedstawiciel na Europę

REF C7563



Manufactured for HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand
5449 Research Drive Canton, MI 48188



2°C - 8°C

IVD



Manufactured for HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

EC REP

Obelis s.a.
Boulevard Général Wahis 53
1030 Brussels, BELGIUM
Tel: (32)2.732.59.54, Fax:(32)2.732.60.03
email: mail@obelis.net



Certyfikacja

Odczynniki Pointe są certyfikowane do produkcji zgodnie z określonymi parametrami. Każdy odczynnik Pointe, który nie spełnia specyfikacji w podanym terminie ważności, zostanie natychmiast i bezpłatnie wymieniony.

Rev. 06/23 P803-C7563-01-PL