

REF 10226-4 4 x 28 ml/7 ml

KREATINKINASE-MB (CK-MB) REAGENS

Jede Patrone enthält jeweils ein Nutzvolumen von 28 ml R1-Reagens und 7 ml R2-Reagens.

VERWENDUNGSZWECK

Das EasyRA-CK-MB-Reagens ist für die quantitative Bestimmung des Enzyms Kreatinkinase-MB (CK-MB) im menschlichen Serum und Plasma anhand des MEDICA „EasyRA® Chemistry Analysators“ in klinischen Laboratorien vorgesehen. Messungen der CK-MB-Aktivität finden bei der Diagnose und Behandlung von Myokardinfarkten und Muskelerkrankungen wie der progressiven, Duchenne'schen Muskeldystrophie statt. Nur für die *In-vitro*-Diagnostik vorgesehen. Nur für den professionellen Einsatz bestimmt.

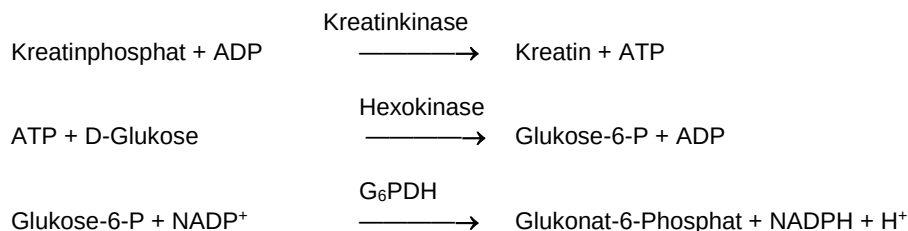
ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Kreatinkinase (CK) sind Dimermoleküle, die aus M- und B-Untereinheiten bestehen und als MM-, MB- und BB-Isoenzyme existieren.¹ Die Untereinheiten M und B sind immunologisch verschieden. CK-MM und CK-MB sind jeweils vor allem in der Skelettmuskulatur und im Herzmuskel zu finden, wohingegen CK-BB vor allem im Gehirn und der glatten Muskulatur vorkommt.² Die Bestimmung von CK-MB-Aktivität im Serum ist ein wichtiger Indikator bei der Diagnose von Myokardischämie, z. B. bei Myokardinfarkten, Myokarditis usw.^{3,4} CK-MB kann im Blut etwa 3–8 Stunden nach Einsetzen der kardialen Symptome nachgewiesen werden und kann über einen langen Zeitraum nachweisbar bleiben, abhängig vom Verlauf der Erkrankung.³

Eine erhöhte CK-MB ist nicht spezifisch für einen Myokardinfarkt und kann auch bei anderen Erkrankungen vorkommen. Erhöhte CK-MB-Werte sollten in Zusammenhang mit dem klinischen Bild und der Anamnese ausgewertet werden.

VERFAHREN

Mit diesem Verfahren wird die CK-Aktivität in der Gegenwart eines CK-M-Monomer-Antikörpers gemessen. Dieser Antikörper hemmt die M-Untereinheiten von CK-MM und CK-MB und ermöglicht somit die Bestimmung der B-Untereinheit von CK-MB (die Abwesenheit von CK-BB wird angenommen). Die katalytische CK-Konzentration, die der Hälfte der CK-MB-Konzentration entspricht, wird durch den Anteil der NADPH-Bildung, mithilfe der folgenden Reaktionsserie, gemessen bei 340 nm:



Die CK-MB-Aktivität wird errechnet, indem die CK-B-Aktivität mit zwei multipliziert wird.

REAGENZIEN

CK-MB-Pufferreagens (R1):

Imadizol-Puffer (pH 6,3)	50 mmol/l
Glukose	20 mmol/l
N-Acetyl-L-Cystein	20 mmol/l
Magnesiumazetat	10,0 mmol/l
NADP	2,0 mmol/l
EDTA	2,0 mmol/l
Hexokinase	5,0 kU/l
LDH	1,5 kU/l
Natriumazid	<0,1 %
Monoklonale Antikörper (Maus) gegen menschliches CK-M, die die Kapazität hemmen	

CK-MB-Substratreagens (R2):

Imadizol-Puffer (pH 9,0)	50 mmol/l
Kreatinphosphat	150 mmol/l
ADP	10 mmol/l
AMP	20 mmol/l
Diadenosinpentaphosphat	50 µmol/l
Glukose-6-PDH	20 kU/l
Natriumazid	<0.1%

VORSICHTSMASSNAHMEN

- 1 Die „Gute Laborpraxis“ sollte bei der Handhabung jeglicher Laborreagenzien befolgt werden (CLSI, GP17-A2).
- 2 Dieses Material enthält Natriumazid als Konservierungsstoff. Vermeiden Sie Verschlucken und den Kontakt mit Haut und Schleimhäuten. Sollte es doch zu Hautkontakt kommen, spülen Sie den entsprechenden Bereich mit reichlich Wasser ab. Bei Berührung mit den Augen oder Verschlucken, suchen Sie umgehend einen Arzt auf. Informieren Sie sich im Sicherheitsdatenblatt über Risiken, Gefahren und Sicherheit.
- 3 Wie bei Diagnosetests üblich sollte die Auswertung der Ergebnisse unter Beachtung aller Testergebnisse und des klinischen Status des Patienten erfolgen.
- 4 Verwenden Sie keine gewaschenen Küvetten.

HANDHABUNG, LAGERUNG UND BESTÄNDIGKEIT DER REAGENS

Das Reagens wird gebrauchsfertig geliefert. Das ungeöffnete Reagens ist bis zum Verfallsdatum auf der Verpackung stabil, wenn sie bei 2 – 8 °C gelagert wird. Das Reagens ist im gekühlten Reagensbereich des EasyRA-Analysators für die auf dem RFID-Chip der Patrone eingespeicherte Anzahl von Tagen stabil. Verwenden Sie das Reagens nicht, wenn es trübe bzw. unklar ist und/oder es nicht in der Lage ist, bekannte Kontrollwerte für Serum wiederherzustellen.

PROBENENTNAHME UND LAGERUNG/STABILITÄT

Zu verwenden sind klares, nicht hämolysiertes Serum und Plasma. Es kann Plasma aus Blut verwendet werden, das mit Lithiumheparin als Antikoagulans entnommen wurde. Probe nach Entnahme so schnell wie möglich zentrifugieren und das Serum/Plasma abtrennen. Serum/Plasma-CK-MB ist bei 2 – 8 °C drei Tage lang stabil.

VERFAHREN**Zur Verfügung gestelltes Material:**

Medica CK-MB-Reagenspatrone, REF 10226

Zusätzliche erforderliche Materialien:

Handelsübliche Kontrollsubstanzen

Medica-Präzisionstest-Farbstoffpatrone, REF 10764

Medica Reinigungspatrone – Testsubstanz + ISE, REF 10660 oder

Medica-Reinigungspatrone – Testsubstanz, REF 10661

Gebrauchsanweisung

Das Reagens wird gebrauchsfertig geliefert. Entfernen Sie den Deckel und geben Sie das Reagens in die Reagensschale des EasyRA-Analysators im Reagensbereich. Die Einlegestabilität (max. 30 Tage) ist auf dem RFID-Chip der Reagenspatrone programmiert.

Hinweis: Überprüfen Sie das Innere der Patronenhäuse auf Schaum, nachdem Sie die Deckel entfernt und die Patrone in den Analysator eingesetzt haben. Entfernen Sie etwaigen Schaum mit einem Tupfer oder einer Einwegpipette, bevor Sie den Test durchführen. Verwenden Sie für R1 und R2 verschiedene Tupfer und Einwegpipetten.

Kalibration

Nicht zutreffend

Qualitätskontrolle

Es wird empfohlen, täglich bei jedem Patiententest und bei jedem Wechsel der Reagens-Charge zwei Stufen menschlicher, serumbasierter Kontrollsubstanzen (normal und abnorm) mit dem Test durchzuführen. Befinden sich die Werte bei dem Durchlauf der Kontrollsubstanzen außerhalb des gültigen Wertebereichs, kann dies auf Reagensverfall, eine Instrumentenfehlfunktion oder Verfahrensfehler zurückzuführen sein. Darüber hinaus sollte das Labor bei der Verwendung von Kontrollsubstanzen Qualitätskontrollrichtlinien auf lokaler, Landes- und Bundesebene befolgen.

Ergebnisse

Nach dem Abschluss des Tests berechnet der Medica EasyRA Analysator die CK-Konzentration aus der Absorbanzänderung pro Minute, dem Probenvolumen, dem gesamten Reaktionsvolumen, der Weglänge von 0,6 cm und dem molaren Extinktionskoeffizienten von 6,22.

$$\text{CK-MB (U/l)} = \text{CK-B (U/l)} \times 2 = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{Gesamtvolumen } (\mu\text{l}) \times 1000) \times 2}{(\text{Molares Adsorptionsvermögen} \times \text{Weglänge (cm)} \times \text{Probenvolumen } (\mu\text{l}))}$$

Eine „unit per liter“ (U/l: Einheit pro Liter) der CK-B-Aktivität entspricht der Enzymmenge, die ein $\mu\text{mol/l}$ NADP pro Minute oxidiert.

Erwartungswerte⁶

Der Referenzbereich für die CK-M-Aktivität liegt im EasyRA-Analysator unter 24 U/l.^{7,8} Dieser Bereich wurde von Medica gemäß CLSI C28-A3c validiert. Dabei ist es wichtig, dass jedes Labor eigene Erwartungswertebereiche festlegt, da zwischen Instrumenten, Labors und der lokalen Bevölkerung Unterschiede bestehen.

Verfahrensbeschränkungen (z. B. wenn Probe über Testbereich)

Zu verwenden sind ausschließlich nicht hämolysierte Serum- oder Plasmaproben.

Wenn die Absorbanzänderung pro Minute ($\Delta A/\text{Min}$) größer ist als 0,003, was etwa 100 U/l entspricht, werden die Ergebnisse vom Analysator mit „SD“ (Substratschöpfung) gekennzeichnet. Absorbanzänderungen pro Minute, die über diesem Wert liegen, sind über dem Linearbereich dieses Tests. Über das „Wiederholen“-Symbol kann die Probe unter Verwendung eines Fünftels (1/5) des Probenvolumens erneut getestet werden. Bei den Ergebnissen wird das kleinere Probenvolumen mit einberechnet. Dies erweitert den möglichen Bereich des CK-MB-Tests auf 500 U/l.

Leistungsdaten⁹

Möglicher Bereich

Der mögliche Bereich reicht von 5 bis 100 U/l. Der erweiterte Bereich liegt zwischen 5 und 500 U/l, wenn ein Fünftel der Probe verwendet wird (1:4 verdünnt).

Ungenauigkeit/Korrelation (CLSI, EP9-A2)

In der folgenden Tabelle sind die Daten aus einem Vergleich zwischen dem Medica-Reagens für CK-MB (Y) auf dem EasyRA Analysator und der Leistung einer von der FDA zugelassenen CK-MB-Reagens (X) auf dem Stanbio Sirrus®-Analysator zu finden. Die unten aufgeführten Daten stellen Einzelbestimmungen von aus dem Serum gewonnenen mit dem EasyRA-Analysator im Vergleich zu zwei Wiederholwerten, die mit einem von der FDA zugelassenen Gerät gewonnen wurden.

SERUM	Probenanzahl	41	Probenbereich	6 bis 100 U/l
	Steigung	0.9869	y-Abschnitt	0.4702
	Korrelationskoeffizient	0.9961	Regressionsgleichung	$0,9869 \times x + 0,4702$

* Sirrus ist eine eingetragene Marke von [Stanbio Laboratory LLP](#) ansässig 1261 North Main St. Boerne, TX 78006

Die unten aufgeführten Daten stellen Einzelbestimmungen für Plasma (Lithiumheparin) im Vergleich zum Durchschnitt zweier Wiederholwerte vom EasyRA-Analysator. Alle Testparameter sind identisch.

PLASMA	Probenanzahl	57	Probenbereich	5 bis 96 U/l
	Steigung	0.9797	y-Abschnitt	1.4523
	Korrelationskoeffizient	0.9945	Regressionsgleichung	$0,9797 \times x + 1,4523$

Impräzision (CLSI, EP5-A2)

Zweifachmessungen für jede der drei Stufen von QK-Substanzen wurden 20 Tage lang zwei Mal pro Tag getestet. Sowohl die Impräzision während des Durchlaufs als auch die Gesamtimpräzision wurde aus diesen Daten gefolgert.

Impräzision bei Durchlauf:			Gesamtimpäzision:		
QK-Stufe	Während d. Durchlaufs		QK-Stufe	Während d. Durchlaufs	
	Gesamtimpäzision			Gesamtimpäzision	
	SD	VK		SD	VK
U/l	U/l	%	U/l	U/l	%
94	0,9	0,9	94	1,7	1,8
30	0,7	2,4	30	0,9	3,0
14	0,6	3,9	14	0,8	5,5

Linearität (CLSI, EP6-A)

Linear von 5 bis 100 U/l, basierend auf der linearen Regression $y = 1,0009 \cdot x - 0,2291$

Erfassungsgrenze (LoB):	1,7 U/l	(CLSI, EP17-A)
Nachweisgrenze (LoD):	2,9 U/l	(CLSI, EP17-A)
Quantifizierungsgrenze (LoQ):	5,0 U/l	(CLSI, EP17-A)

Störsubstanzen (CLSI, EP7-A)

Weniger als 10 % Interferenz wurde als keine signifikante Interferenz eingestuft."

Hämoglobin führt auch in minimalen Konzentrationen zu Interferenzen. Keine hämolysierten Proben verwenden.

Bei Konzentrationen bis 25 mg/dl Bilirubin wurde keine signifikante Interferenz festgestellt.

Bei Konzentrationen bis 775 mg/dl an Triglyzeriden (unter Verwendung von Intralipid*) wurde keine signifikante Interferenz festgestellt.

Bei Konzentrationen bis 30 mg/dl Ascorbinsäure wurde keine signifikante Interferenz festgestellt.

**Intralipid ist eine eingetragene Marke von Pharmacia AB, Clayton, NC.*

Liste von Medikamenten und anderen Substanzen nach Young, die klinische Labortests^{10,11} störend beeinflussen.

Hinweis: Durch das Verfahren können die CK-MB-Aktivitätswerte überschätzt werden, wenn die CK-BB-Isoenzymaktivität im Serum hoch ist. In den Seren gesunder Individuen und Myokardinfarktpatienten ist in der Regel keine CK-BB-Aktivität vorhanden.⁷ Es sollte das Vorhandensein einer Makroform von CK-BB in der Probe vermutet werden, wenn die durch dieses Verfahren gemessene CK-MB-Aktivität mehr als 20 % der CK-Aktivität ausmacht.

REFERENZEN

- 1 Dawson, D.M. et al., Biochem Biophys. Res. Comm 21:346 (1965).
- 2 Neumeir, D., Tissue Specific Distribution of Creatine Kinase Isoenzyme, Lang, Editor, Springer Verlag, ew York, 1981, 85-109.
- 3 Rozenman Y, Gotsman MS. The earliest diagnosis of acute myocardial infarction. Annu Rev Med 1994;45:31-44.
- 4 Adams JE, Abendschein DR, Jaffe AS. Biochemical markers of myocardial injury: Is MB creatine kinase the choice for the 1990s? Circulation 1993;88:750-763.
- 5 D'Souza, J.P., et al., Clin. Biochem 11, 204 (1978).
- 6 Stein, W., Strategie der klinisch-chemischen Diagnostik des frischen Myokardinfarkts. Med Welt 1985;36:572-7.
- 7 Klein G, Berger A, Bertholf R et al. Abstract: Multicenter Evaluation of Liquid Reagents for CK, CK-MB and LDH with Determination of Reference Intervals on Hitachi Systems. Clin Chem 2001; 47:Suppl. A30.
- 8 Thomas L, Müller M, Schumann G, Weidemann G et al. Consensus of DGKL and VDGH for interim reference intervals on enzymes in serum. J Lab Med 2005;29:301-308.
- 9 Daten hinterlegt bei Medica.
- 10 Young DS. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests. 2nd ed. Washington, DC. AACC Press; 1997.
- 11 Young, DS., Pestaner, L.C., Gibberman, V.; Effects of drugs on clinical laboratory tests. Clin Chem 21: 246D, 1975.

EasyRA-Testparameter (CK-MB)

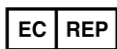
Primärwellenlänge (nm)	340
Sekundärwellenlänge (nm)	405
Reaktionstyp	Enzym (0)
Reaktionsrichtung	Erhöhung
Reagensblindwert	nein
Blindprobe	nein
Max. Abs.-Änderung in 1. Messung	0.003
Reaktionszeit	9,3 Min.
Kalibrationsintervall (max.)	NZ
Einlegestabilität Reagens	30 Tage

Serum/Plasma

Probenvolumen (µl)	8.0
Verdünnervolumen (µl)	20
Reagensvolumen R1 (µl)	160
Reagensvolumen R2 (µl)	40
Dezimalstellen (Standardwerte)	0
Einheiten (Standardwerte)	U/l
Verdünnungsfaktor	1:4 (1/5 der Probe wird verwendet) (um den Messbereich zu erweitern)
Linearität	5 bis 100 U/l
Molarer Extinktionskoeffizient	6.22



Medica Corporation, 5 Oak Park Drive
Bedford, MA 01730-1413 USA



Emergo Europe, Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague, The Netherlands