

REF 10226-4 4 x 28 ml / 7 ml

ODCZYNNIK TESTU INOENZYMU SERCOWEGO KINAZY KREATYNOWEJ (CKMB)

Każdy z klinów zawiera 28 ml odczynnika R1 i 7 ml odczynnika R2.

ZASTOSOWANIE

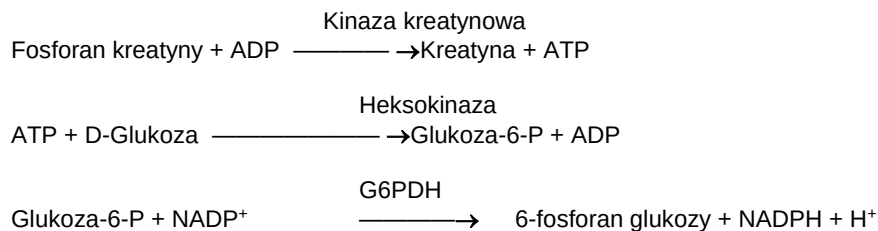
Odczynnik CKMB EasyRA służy do ilościowego pomiaru inoenzymu sercowego kinazy kreatynowej (CKMB) w surowicy i osoczu ludzkim z użyciem analizatora MEDICA EasyRA® w laboratoriach klinicznych. Pomiary aktywności CK-MB są stosowane w diagnostyce i leczeniu zawału mięśnia sercowego i schorzeń mięśni, takich jak postępującej dystrofii mięśni Duchenne'a. Wyłącznie do diagnostycznego stosowania *in vitro*. Do stosowania wyłącznie przez profesjonalny personel.

OPIS I OBJAŚNIENIA

Kinaza kreatynowa (CK) to dymetryczne cząsteczki składające się z podjednostek M i B oraz funkcjonujące jako izoenzymy MM, MB i BB.¹ Podjednostki M i B są charakterystyczne immunologicznie. Izoenzymy CK-MM i CK-MB są pierwotnie rozprowadzane odpowiednio w mięśniach szkieletowych i mięśniu sercowym, natomiast izoenzym CK-BB obecny jest głównie w mózgu i tkankach składających się z mięśni gładkich.² Ocena aktywności CKMB w surowicy to ważny element diagnostyki niedokrwienia mięśnia sercowego, np. przy ostrym zawale, zapaleniu mięśnia sercowego itp.^{3,4} CKMB jest wykrywalne we krwi po około 3-8 godzinach po pierwszych objawach ze strony mięśnia sercowego i może utrzymywać się przez dłuższy okres, w zależności od przebiegu choroby.³ Podwyższony poziom CKMB nie jest specyficzny dla zawału serca mięśniowego i może wystąpić również w przebiegu innych chorób. Podwyższone wartości CKMB powinny być interpretowane w połączeniu z oceną kliniczną i historią choroby pacjenta.

ZASADY POSTĘPOWANIA

W tym badaniu aktywność CK mierzona jest w obecności przeciwciał reagujących na monomer CK-M. Te przeciwciała są inhibitorami podjednostek M CK-MM oraz CK-MB i w ten sposób pozwalają na ocenę podjednostki B CK-MB (zakładając brak obecności CK-BB). Stężenie katalityczne CK-B, które odpowiada połowie stężenia CK-MB, oznacza się na podstawie tempa tworzenia się NADPH, mierzonego przy 340 nm, stosując następujące reakcje:



Aktywność CK-MB uzyskuje się, mnożąc aktywność CK-B razy dwa.

ODCZYNNIKI

Odczynnik buforowy CK-MB (R1):

Bufor imidazolowy (pH 6,3)	50 mmol/l
Glukoza	20 mmol/l
N-acetylo-L-cysteina	20 mmol/l
Octan magnezu	10,0 mmol/l
NADP	2,0 mmol/l
EDTA	2,0 mmol/l
Heksokinaza	5,0 kU/l
LDH	1,5 kU/l
Azydek sodu	< 0,1%
Przeciwciało monoklonalne (mysie) przeciw ludzkiemu CK-M, mające właściwości inhibitora	

Odczynnik substratu CK-MB (R2):

Bufor imidazolowy (pH 9,0)	50 mmol/l
Fosforan kreatyny	150 mmol/l
ADP	10 mmol/l
AMP	20 mmol/l
Pentafosforan diadenozyny	50 µmol/l
Głukoza-6-PDH	20 kU/l
Azydek sodu	< 0,1%

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- 1 W czasie pracy z odczynnikami należy przestrzegać dobrych praktyk laboratoryjnych w zakresie bezpieczeństwa. (CLSI, GP17-A2).
- 2 Materiał ten zawiera azydek sodu dodany jako środek konserwujący. Unikać połknięcia lub kontaktu ze skórą czy błonami śluzowymi. W razie kontaktu ze skórą przemyć narażone miejsce dużą ilością wody. W razie kontaktu z oczami lub połknięcia natychmiast zwrócić się do lekarza o pomoc. Informacje na temat ryzyka, zagrożeń i bezpieczeństwa znajdują się w Karcie charakterystyki substancji niebezpiecznej.
- 3 Podobnie jak w przypadku innych procedur diagnostycznych wyniki należy interpretować z uwzględnieniem wyników pozostałych badań i stanu klinicznego pacjenta.
- 4 Nie używać mytych kuwet.

INSTRUKCJE DOTYCZĄCE UŻYWANIA, PRZECHOWYWANIA I STABILNOŚCI ODCZYNNIKA

Odczynnik jest gotowy do użycia w dostarczonej postaci. Nieotwarty odczynnik pozostaje stabilny do upływu terminu ważności podanego na etykiecie, jeśli jest przechowywany w temperaturze 2–8°C. Odczynnik pozostaje stabilny w komorze chłodniczej odczynników analizatora biochemicznego Medica EasyRA przez liczbę dni zaprogramowaną w module RFID na klinie odczynnika. Nie używać odczynnika, jeśli jest mętny lub zanieczyszczony, lub jeśli wskazuje błędne wartości podczas porównania ze znanymi wartościami kontrolnymi.

POBIERANIE I PRZECHOWYWANIE MATERIAŁU/STABILNOŚĆ PRÓBEK

Należy używać czystej, niehemolizowanej surowicy / osocza. Można użyć osocza pochodzącego z krwi pobranej z heparyną litową jako antykoagulantem. Odwirować i usunąć surowicę/osocze jak najszybciej po pobraniu. CK-MB w surowicy/osoczu zachowuje stabilność przez 3 dni w temperaturze 2–8°C.

PROCEDURA

Dostarczone materiały

Pojemnik odczynnika Medica CKMB, NR REF. 10226

Wymagane materiały dodatkowe

Komercyjnie dostępny materiał do kontroli

Pojemnik z barwnikiem do testu precyzji Medica, NR REF. 10764

Pojemnik ze środkiem czyszczącym Medica – Chemistry & ISE, NR REF. 10660 lub

Pojemnik ze środkiem czyszczącym Medica – Chemistry, NR REF. 10661

Instrukcja użycia

Odczynnik jest gotowy do użycia w dostarczonej postaci. Zdjąć korek i umieścić odczynnik na tacy odczynników analizatora EasyRA znajdującej się na obszarze odczynników. Stabilność podczas przechowywania w systemie (maksimum 30 dni) jest programowana w module RFID na klinie odczynnika.

Uwaga: Przed umieszczeniem klina w analizatorze i po zdjęciu korków sprawdzić, czy wewnątrz szyjek klina nie wytworzyła się piana. Jeśli pojawiła się piana, przed przeprowadzeniem badania usunąć ją wacikiem lub jednorazową pipetką. Używać oddzielnych wacików lub pipetek do odczynników R1 i R2.

Kalibracja

Nie dotyczy.

Kontrola jakości

Zaleca się przeprowadzanie kontroli jakości badania surowicy ludzkiej na dwóch poziomach (normalnym i anormalnym) codziennie – wtedy, gdy odbywają się testy pacjenta, oraz po każdorazowej zmianie partii odczynników. Problemy z uzyskaniem odpowiedniego zakresu wartości podczas oznaczania materiału kontrolnego mogą wskazywać na degradację odczynnika, usterkę instrumentu lub błędy proceduralne. Podczas korzystania z materiałów kontroli jakości w laboratorium należy również stosować się do lokalnych i krajowych wytycznych dotyczących kontroli jakości.

Wyniki

Po zakończeniu oznaczania analizator chemiczny Medica EasyRA oblicza stężenie CK-MB na podstawie zanotowanej zmiany absorbancji na minutę, objętości próbki, całkowitej objętości reakcji, długości ścieżki (cm) równej 0,6 i absorpcyjności molowej równej 6,22.

$$\text{CK-MB (U/l)} = \text{CK-B (U/l)} \times 2 = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{Objętość całkowita } (\mu\text{l}) \times 1000) \times 2}{(\text{Absorpcyjność molowa} \times \text{długość ścieżki (cm)} \times \text{objętość próbki } \mu\text{l})}$$

Jednostka na litr (U/l) aktywności CK-B to ilość enzymu, która utlenia jeden $\mu\text{mol/l}$ NADP na minutę.

Przewidywane wartości⁶

Zakres referencyjny dla aktywności CK-MB w analizatorze EasyRA jest poniżej 24 U/l.^{7,8} Zakres ten został poddany walidacji zgodnie z CLSI C28-A3c. Zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło własny zakres wartości oczekiwanych, gdyż istnieją różnice pomiędzy instrumentami, laboratoriami oraz populacjami różnych regionów.

Ograniczenia proceduralne (np. w przypadku wykroczenia próbki poza zakres oznaczania)

Należy używać wyłącznie niehemolizowanych próbek surowicy lub osocza.

Jeśli zmiana absorbancji na minutę ($\Delta A/\text{Min}$) jest większa niż 0,003, co odpowiada mniej więcej 100 U/l, analizator oznaczy wyniki symbolem „SD” (wyczerpanie substratu). Zmiany absorbancji na minutę powyżej tej wartości wykraczają poza zakres liniowy testu. W przypadku wybrania przez operatora ikony „Re-run” (Uruchom ponownie) próbka może zostać ponownie zbadana przy użyciu jednej piątej (1/5) objętości próbki. Wyniki ponownej analizy zostają obliczone z uwzględnieniem zmniejszonej objętości próbki. Spowoduje to rozszerzenie raportowanego zakresu oznaczania CK-MB do 500 U/l.

Charakterystyka wydajności⁹

Zakres raportowany

Zakres raportowany wynosi od 5 do 100 U/l. Rozszerzony zakres wynosi od 5 do 500 U/l przy użyciu jednej piątej próbki (rozcieńczenie 1:4).

Niedokładność / Korelacja (CLSI, EP9-A2)

Poniższa tabela zawiera wyniki porównania odczynnika CK-MB (Y) w analizatorze EasyRA z porównywalnym odczynnikiem CK-MB zatwierdzonym przez FDA (X) w analizatorze Stanbio Sirrus®. Przedstawione dane to wyniki dla pojedynczych oznaczeń w analizatorze chemicznym EasyRA w porównaniu z przeciętnie dwiema powielanymi wartościami uzyskanymi w analizatorze zatwierdzonym przez FDA.

SUROWICA	Liczba próbek	41	Zakres próbek	6 do 100 U/l
	Nachylenie	0,9869	y Wychwytywanie	0,4702
	Współczynnik korelacji	0,9961	Równanie regresji	$0,9869 \times X + 0,4702$

* Sirrus to zarejestrowany znak handlowy Stanbio Laboratory LLP z siedzibą przy 1261 North Main St. Boerne, TX 78006

Przedstawione dane to wyniki dla pojedynczych oznaczeń próbek osocza (z heparyną litową) w porównaniu z przeciętnie dwiema powielanymi wartościami uzyskanymi na próbkach surowicy w analizatorze EasyRA. Wszystkie parametry testów są identyczne.

OSOCZE	Liczba próbek	57	Zakres próbek	5 do 96 U/l
	Nachylenie	0,9797	y Wychwytywanie	1,4523
	Współczynnik korelacji	0,9945	Równanie regresji	$0,9797 \times X + 1,4523$

Niedokładność (CLSI, EP5-A2)

Podwójne pomiary każdego z trzech poziomów materiałów do kontroli jakości były testowane dwa razy dziennie przez 20 dni. Dane te posłużyły do ustalenia zarówno dokładności wewnętrznej, jak i całkowitej.

Niedokładność wewnątrzserijna:			Niedokładność całkowita:		
Poziom kontroli jakości	Wewnątrzserijna		Poziom kontroli jakości	Wewnątrzserijna	
	Niedokładność całkowita			Niedokładność całkowita	
U/l	SD	CV	U/l	SD	CV
	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

Liniiowość (CLSI, EP6-A)

Test liniowy w zakresie od 5 do 100 U/l, w oparciu o równanie regresji liniowej $Y = 1,0009 \cdot x - 0,2291$.

Granica próby ślepej (LOB):	1,7 U/l	(CLSI, EP17-A)
Granica wykrywania (LOD):	2,9 U/l	(CLSI, EP17-A)
Limit ilościowania (LOQ):	5,0 U/l	(CLSI, EP17-A)

Substancje interferujące (CLSI, EP7-A)

Interferencja poniżej 10% została sklasyfikowana jako „brak znaczącej interferencji”.
Interferencja hemoglobiny, nawet w minimalnych stężeniach. Nie używać próbek hemolizowanych.
Brak znaczącej interferencji zanotowano dla bilirubiny na poziomie poniżej 25 mg/dl.
Brak znaczącej interferencji zanotowano dla trójglicerydów na poziomie poniżej 775 mg/dl (z zastosowaniem Intralipid*).

Brak znaczącej interferencji zanotowano dla kwasu askorbinowego na poziomie poniżej 30 mg/dl.

**Intralipid jest zarejestrowanym znakiem towarowym Pharmacia AB, Clayton, NC.*

Young przedstawia listę leków i innych substancji będących przyczyną interferencji w klinicznych testach chemicznych.^{10,11}

Uwaga: Badanie to może wykazać podwyższoną wartość aktywności CK-MB, jeśli aktywność izoenzymu CK-BB w surowicy jest wysoka. U zdrowych osób oraz pacjentów z zawałem mięśnia sercowego zwykle brak aktywności CK-BB.⁷ Należy założyć obecność makro form CK-BB w próbce, jeśli zmierzona w tym badaniu aktywność CK-MB wynosi ponad 20% całkowitej aktywności CK.

PIŚMIENNICTWO

- 1 Dawson, D.M. i in., 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? Nakład 1993;88:750-763.
- 5 D'Souza, J.P., i in., 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 i in. Abstrakt: Multicenter Evaluation of Liquid Reagents for CK, CK-MB and LDH with Determination of Reference Intervals on Hitachi Systems. Clin Chem 2001; 47:Dodatek A30.
- 8 Thomas L, Müller M, Schumann G, Weidemann G i in. Consensus of DGKL and VDGH for interim reference intervals on enzymes in serum. J Lab Med 2005;29:301-308.
- 9 Dane zgromadzone przez firmę Medica.
- 10 Young DS. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests. 2. wyd. 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.

Parametry oznaczania EasyRA (CKMB)

Podstawowa długość fali (nm)	340
Drugorzędna długość fali (nm)	405
Typ reakcji	Enzym (0)
Kierunek reakcji	Rosnący
Odczynnik ślepy	Brak
Próba zerowa dla próbki	Brak

Maks. zmiana abs. w pierwszym okr.	0,003
Czas reakcji	9,3 min
Przerwa między kalibracjami (maksymalna)	nd.
Stabilność odczynnika w systemie	30 dni

Surowica/Osocze

Objętość próbki (μl)	8,0
Obj. rozcieńczalnika (μl)	20
Objętość odczynnika R1 (μl)	160
Objętość odczynnika R2 (μl)	40
Miejsca po przecinku (wartości standardowe)	0
Jednostki (wartości domyślne)	U/l
Współczynnik rozcieńczenia	1:4 (1/5 próbki użyta do rozszerzenia zakresu pomiaru)
Liniowość	5 do 100 U/l
Absorpcyjność molowa	6,22



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



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