

REF 10226-4 4 x 28 mL / 7 mL

## INOENZYM SERCOWY KINAZY KREATYNOWEJ (CKMB)

Każdy klin 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 klinicznego analizatora chemicznego MEDICA EasyRA® w laboratoriach klinicznych. Pomiar aktywności CK-MB są stosowane w diagnostyce i leczeniu zawału mięśnia sercowego i schorzeń mięśni, takich jak postępującej dystrofii mięśni Duchenne'a. Do diagnostycznego stosowania *in vitro*. Do stosowania wyłącznie przez profesjonalny personel.

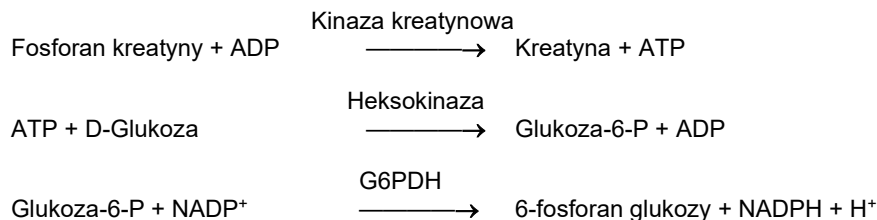
### OPIS I OBJAŚNIENIA

Kinaza kreatynowa (CK) to dymetryczne cząsteczki składające się z podjednostek M i B oraz funkcjonujące jako izoenzymy MM, MB i BB.<sup>1</sup> 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.<sup>2</sup> Ocena aktywności CKMB w surowicy to ważny element diagnostyki niedokrwienia mięśnia sercowego, np. przy ostrym zawałe, zapaleniu mięśnia sercowego itp.<sup>3,4</sup> 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.<sup>3</sup>

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)	120 mmol/L
Glukoza	25 mmol/L
N-acetylo-L-cysteina	25 mmol/L
Octan magnezu	12,5 mmol/L
NADP	2,5 mmol/L
EDTA	2,0 mmol/L
Heksokinaza	≥ 5 kU/L
Azydek sodu	< 0,1%
Przeciwciała monoklonalne (mysie) przeciw ludzkiemu CK-M, mające właściwości inhibitora	≥ 2500 U/L

**Odczynnik substratu CK-MB (R2):**

Bufor imidazolowy (pH 9,0)	90 mmol/L
Fosforan kreatyny	150 mmol/L
ADP	10 mmol/L
AMP	28 mmol/L
Pentafosforan diadenozyny	50 µmol/L
Glukoza-6-PDH	≥ 15 kU/L
Azydek sodu	< 0,1%

**ŚRODKI OSTROŻNOŚCI**

- 1 W czasie pracy z odczynnikami należy przestrzegać dobrych praktyk laboratoryjnych w zakresie bezpieczeństwa. (CLSI, GP17-A3).
- 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 klinicznego analizatora chemicznego 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. Chronić przed światłem.

**POBIERANIE I PRZECHOWYWANIE MATERIAŁU/STABILNOŚĆ PRÓBEK**

Należy używać czystej, niezhemolizowanej surowicy / osocza. Można użyć osocza pochodzącego z krwi pobranej z heparyną litową jako antykoagulantem. Odwirować i usunąć surowicę lub osocze jak najszybciej po pobraniu. CK-MB w surowicy lub osoczu zachowuje stabilność przez 3 dni w temperaturze 2–8°C.<sup>5</sup>

**PROCEDURA****Dostarczone materiały**

Pojemnik odczynnika Medica CKMB, NR REF. 10226-4

**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 klinicznego analizatora chemicznego 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 kliniczny 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 wartości<sup>6</sup>

Zakres referencyjny dla aktywności CK-MB w klinicznym analizatorze chemicznym EasyRA jest poniżej 24 U/L.<sup>7,8</sup> 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 niezhemolizowanych próbek surowicy lub osocza.

Jeśli zmiana absorbancji na minutę ( $\Delta A/\text{Min}$ ) jest większa niż 0,0327, 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 WYDAJNOŚCI<sup>9</sup>

### 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, EP09-A2)

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

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*X + 0,4702

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

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

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*X + 1,4523

### Niedokładność (CLSI, EP05-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 wewnętrzna:			Niedokładność całkowita:		
Poziom kontroli jakości	Wewnętrzna	Niedokładność całkowita	Poziom kontroli jakości	Wewnętrzna	Niedokładność całkowita
	SD	CV		SD	CV
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

## Liniowość (CLSI, EP06)

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, EP07)

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.<sup>10,11</sup>

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.<sup>7</sup> 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 Guder WG, Zawta B et al. *The Quality of Diagnostic Samples*. 1<sup>st</sup> Ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 24-5.
- 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