

## L CK – MB

**Diagnostická reagensie pro kvantitativní in vitro stanovení CK-MB v séru nebo plazmě fotometricky.**

### Katalogové číslo:

**11202 500 ml (5 x 80 ml + 1 x 100 ml)**

**11203 100 ml (5 x 16 ml + 1 x 20 ml)**

### Shrnutí<sup>1,2</sup>:

Kreatinkináza (CK) je enzym, který se skládá z izoenzymů, zejména svalů (CK-M) a mozku (CK-B). Kreatinkináza se vyskytuje v lidském těle ve formě dimerů jako CK-MM, CK-MB, CK-BB a jako makroenzymy. Měření CK-MB je zcela specifický test pro zjišťování poškození srdečního svalu, a proto se používá pro diagnózu a monitorování infarktu myokardu.

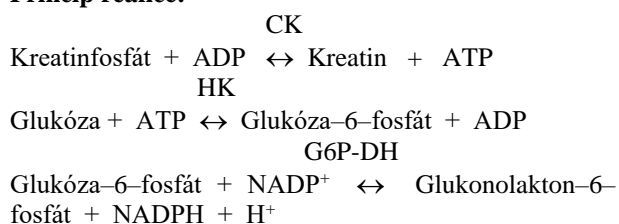
### Metoda:

Optimalizovaná fotometrická metoda v UV oblasti v souladu s DGKC (German Society of Clinical Chemistry) a IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) pro CK s inhibicí CK-M izoenzymů pomocí monoklonálních protilátek.

### Princip:

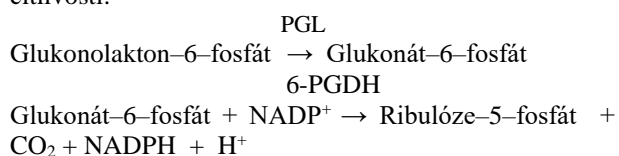
Isoenzym CK-MB se skládá z podjednotek CK-M a CK-B. Specifické protilátky proti CK-M inhibují kompletně katalytickou koncentraci CK-MM (hlavní podíl celkové katalytické koncentrace CK) a podjednotku CK-M z frakce CK-MB. Měří se pouze katalytická koncentrace CK-B, což reprezentuje poloviční katalytickou koncentraci CK-MB.

### Princip reakce:



### CK-MB DS (katalogové číslo: 11201, 3 x 3 ml):

U vzorků s nízkou katalytickou koncentrací CK-MB je měřený signál příliš nízký. Doplnková reagensie CK-MB DS vyvolá další reakční krok, který zdvojnásobí měřený signál a tím dojde ke zlepšení přesnosti a citlivosti:



### Reagensie:

#### Složení a koncentrace

##### R1:

Imidazol/Good pufr	120 mmol/l
Glukóza	25 mmol/l
N-acetylcystein (NAC)	25 mmol/l
Octan hořčnatý	12,5 mmol/l
EDTA-Na <sub>2</sub>	2 mmol/l
NADP	2,5 mmol/l
Hexokináza	≥83,3 μkat/l
Monoklonální protilátky proti lidskému CK-M (myši), inhibiční kapacita	41,7 μkat/l

##### R2:

Imidazol/Good pufr	90 mmol/l
ADP	10 mmol/l
AMP	28 mmol/l
Glukóza-6-fosfát dehydrogenáza (G6P-DH)	≥250 μkat/l
Diadenosinpentafosfát	50 μmol/l
Kreatinfosfát	150 mmol/l
Stabilizátory	

### Skladování a stabilita:

Diagnostické použití in vitro.

Reagensie, skladované při 2-8°C, jsou stabilní do konce měsíce deklarovaného na balení. Chránit před světlem a zabránit kontaminaci. Reagensie se nesmí zmrazit.

### Příprava reagenčních roztoků:

**1. Start substrátem:** Činidla R1 a R2 jsou připravena k přímému použití a jsou stabilní do konce měsíce deklarovaného na balení, po otevření je nutno zabránit kontaminaci, skladovat při 2 - 8 °C v temnu. Reagensie nezamrazovat.

**Při použití CK-MB DS:** Smíchat 1 díl CK-MB DS se 20 díly reagensie R1. Tuto směs použijte jako reagensii R1.

Stabilita směsi: 6 dní při 2-8°C nebo 24 hodin při 15-25°C.

**2. Start vzorkem (bez CK-MB DS):** Činidla smíchat v poměru 4 + 1 (např. 20 ml R1 + 5 ml R2), směsné činidlo je stabilní 2 týdny při 2-8°C nebo 24 hodin při 15-25°C.

Monoreagent chránit před světlem.

### Další potřebné materiály:

NaCl roztok 9 g/l

Obecné laboratorní vybavení.

## Vzorek:

Sérum, plazma.

Stabilita<sup>8</sup>: 2 dny při 20 - 25 °C  
7 dní při 4 - 8 °C  
4 týdny při -20°C (uchovávat v temnu).

Vzorky lze zamrazit pouze jednou.

Nutno zabránit kontaminaci vzorku.

## Pracovní postup:

*Aplikace pro automatické analyzátory je dostupná na vyžádání.*

Vlnová délka: 340 nm, Hg 334 nm

Kyveta: 1 cm

Teplota: 37°C

Měření: proti reagenčnímu blanku

### 1. Start substrátem:

	Vzorek/ml	Standard/ml	Blank/ml
Vzorek	0,05	-	-
Dest. voda	-	-	0,05
Standard	-	0,05	-
R1	1,00	1,00	1,00

Promíchat a inkubovat přibližně 3 min, přidat :

R2	0,25	0,25	0,25
----	------	------	------

Promíchat a po 2 minutách změřit počáteční absorbanci. Začít měřit čas a přesně po 1, 2, 3, 4 a 5 minutách změřit absorbance. Vypočítat průměrnou  $\Delta A/\text{min}$ .

### 2. Start vzorkem:

	Vzorek/ml	Standard/ml	Blank/ml
Vzorek	0,04	-	-
Dest. voda	-	-	0,04
Standard	-	0,04	-
R1 + R2	1,00	1,00	1,00

Promíchat a 5 minut inkubovat, změřit počáteční absorbanci a začít měřit čas. Přesně po 1, 2, 3, 4 a 5 minutách změřit absorbance. Vypočítat průměrnou  $\Delta A/\text{min}$ .

## Výpočet:

### Pomocí faktoru:

Na základě měření absorbance vypočítejte  $\Delta A/\text{min}$  a vynásobte jej příslušným faktorem uvedeným v tabulce níže:

$\Delta A/\text{min} \times \text{faktor} = \text{CK-MB aktivita } [\mu\text{kat/l}]$   
bez použití CK-MB DS s CK-MB DS

340 nm 137,57 68,78

334 nm 140,23 70,12

### Pomocí kalibrátoru:

$c_{\text{CK-MB}} = c_{\text{st}} \cdot (\Delta A_{\text{s}}/\text{min} - \Delta A_{\text{bl}}/\text{min}) / (\Delta A_{\text{st}}/\text{min} - \Delta A_{\text{bl}}/\text{min})$   
[ $\mu\text{kat/l}$ ]

$c_{\text{st}}$  ..... katalytická koncentrace standardu uvedená v atestu  
[ $\mu\text{kat/l}$ ]

$A_{\text{s}}$  ..... absorbance vzorku

$A_{\text{st}}$  ..... absorbance standardu

$A_{\text{bl}}$  ..... absorbance blanku

Výsledek se vydá v  $\mu\text{kat/l}$  na 2 platná desetinná místa.

## Kalibrace:

Ke kalibraci použijte vhodný kalibrační materiál s definovanou hodnotou CK-MB, založený na lidské matrici. Např. TruCal CK-MB (k.č. 594509910074). Přímá návaznost tohoto kalibrátoru je na molární absorpční koeficient, koncentrace byla stanovena s celkovou nejistotou  $U_{\text{cal}} = 5,70\%$ .

Použití kalibračního a kontrolního materiálu obsahující CK-MB nehumánního původu se nedoporučuje, protože monoklonální protilátky obsažené v tomto testu jsou specifické pro lidské CK-MB.

## Řízení kvality:

Pro vnitřní kontrolu kvality platí doporučení ČSKB SIKK, které je dostupné na webové stránce <http://www.cskb.cz> a pro externí hodnocení kvality je třeba využít některý komerčně dostupný systém, jehož výsledky jsou v ČR akceptovány. Bližší informace na <http://www.sekk.cz>.

Pro vnitřní kontrolu kvality použijte kontrolní séra, která obsahují CK-MB lidského původu, např.:

Bionorm U kat.č. C00.001 20 x 5 ml

Biopath U kat.č. C00.002 20 x 5 ml

## Referenční hodnoty:

Infarkt myokardu: riziko infarktu myokardu je vysoké pokud jsou splněny následující tři podmínky<sup>6</sup>:

1. CK (muži) > 3,17  $\mu\text{kat/l}^{**}$

CK (ženy) > 2,78  $\mu\text{kat/l}^{**}$

2. CK-MB > 0,40  $\mu\text{kat/l}^{**}$

3. Aktivita CK-MB je mezi 6 a 25% aktivity celkové CK.

<sup>\*\*</sup> vypočteno pomocí teplotního konverzního faktoru 2,38 (25°C → 37°C)

Pokud existuje podezření na infarkt myokardu a podmínky nejsou splněny, může se jednat o nedávnou příhodu. V tomto případě by se mělo měření opakovat za 4 hodiny s čerstvými vzorky.

Rozdílné hodnoty u zdravých jedinců jsou v závislosti na rase a věku<sup>6,7</sup>.

Každá laboratoř by měla zkontrolovat, jestli jsou referenční hodnoty přenosné na jejich vlastní pacienty nebo popřípadě stanovit svoje vlastní referenční rozmezí. Pro diagnostické účely CK hodnot by měla být brána do úvahy anamnéza, klinické a další nálezy.

## Měřicí rozsah:

Tento test byl vyvinut pro stanovení CK-MB do aktivity 33,3  $\mu\text{kat/l}$ . Pokud je tato hodnota překročena, měly by vzorky být ředěny pomocí 0,9% NaCl.

## Funkční senzitivita/mez stanovitelnosti:

0,03  $\mu\text{kat/l}$

## Analytická senzitivita/citlivost:

0,015  $\mu\text{kat/l}$

## Bias:

5,6% ( pro 1,05  $\mu\text{kat/l}$  )

### Nejistota:

Byla stanovena z nejistoty kalibračního materiálu a nejistoty měření jako rozšířená standardní nejistota ( $k=2$ )

$$U_{st} = 2\sqrt{(U_{cal}^2 + U_{method}^2)} = 2\sqrt{(5,7^2 + 0,6^2)} = 11,26\%$$

### Analytická selektivita:

Kyselina askorbová do 1,7 mmol/l, konjugovaný a nekonjugovaný bilirubin do 427,5  $\mu$ mol/l a lipémie do 9,9 mmol triacylglycerolů neruší stanovení. Hemoglobin interferuje již v nízkých koncentracích od 0,25 g/l. Více informací o interferujících látkách naleznete v Young DS<sup>9</sup>.

### Přesnost:

Přesnost v sérii: (n=20)

Vzorek	Průměr $\mu$ kat/l	SD $\mu$ kat/l	CV %
vzorek 1	0,45	0,012	2,61
vzorek 2	0,78	0,015	1,82
vzorek 3	1,77	0,017	0,97

Přesnost ze dne na den: (n=20)

Vzorek	Průměr $\mu$ kat/l	SD $\mu$ kat/l	CV %
vzorek 1	0,47	0,018	3,72
vzorek 2	0,88	0,028	3,15
vzorek 3	1,82	0,039	2,13

### Srovnání metod:

Srovnání stanovení mezi diagnostickou soupravou BioVendor <sup>4</sup>CK-MB(y) a komerčně dostupnou soupravou (x) bylo provedeno na 90 vzorcích. Rovnice má tvar  $y = 1,00x + 0,035 \mu$ kat/l;  $r = 1,00$ .

### Upozornění:

1. Vzorky s aktivitou CK-MB vyšší než 33,3  $\mu$ kat/l je nutno vhodně naředit 0,9% NaCl a výsledek násobit ředícím faktorem.
2. Reagencie 1 a 2: Upozornění: H360D může poškodit plod v těle matky. P201 - zajistěte si speciální instrukce před použitím. P280 – používejte ochranné rukavice/ ochranný oděv / ochranné brýle / ochranu obličeje. P308 + P313 při zasažení: Vyhledejte lékařskou pomoc / ošetření.
3. Činidla obsahují azid sodný, nutno zabránit kontaktu s kůží a sliznicemi.
4. Reagencie obsahují biologický materiál zvířecího původu. Zacházejte s nimi jako s potenciálně infekčním materiálem v souladu s pokyny správné laboratorní praxe.
5. Ve vzácných případech u pacientů s gamapathií se mohou vyskytnout falešné výsledky. [10]
6. Heterofylní protilátky ve vzorcích pacientů mohou způsobit falešné výsledky.
7. Při práci s touto reagentií dodržujte nutná bezpečnostní opatření. Více informací naleznete v Bezpečnostním listu. Pro diagnostické použití, výsledky by měly být posuzovány v kontextu historie

léčby pacienta, klinickými zkouškami a dalšími nálezy.

8. Pouze pro použití odborně vyškoleným personálem!
10. Likvidujte v souladu s platnými předpisy.
11. Léčba sulfasalazinem a sulfapyridinem může vést k falešným výsledkům u pacientů. Odběr krve musí být proveden před podáním těchto léků.

### Literatura:

1. Stein W. Creatine kinase (total activity), creatine kinase isoenzymes and variants. In: Thomas L, ed. Clinical laboratory diagnostics. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft;1998.p.71-80.
2. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 617-721.
3. Würzburg U, Hennrich N, Orth HD, Lang H. Quantitative determination of creatine kinase isoenzyme catalytic concentrations in serum using immunological methods. J Clin Chem Clin Biochem 1977;15:131-7.
4. Recommendations of the German Society for Clinical Chemistry. Standardization of methods for the estimation of enzyme activities in biological fluids: Standard method for the determination of creatine kinase activity. J Clin Chem Clin Biochem 1977;15:255-60.
5. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Féraud G et al. IFCC primary reference procedure for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 2: Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of creatine kinase. Clin Chem Lab Med 2002;40:635-42.
6. Stein W. Strategie der klinisch-chemischen Diagnostik des frischen Myokardinfarkts. Med Welt 1985;36:572-7.
7. Myocardial infarction redefined – a consensus document of the Joint European society of Cardiology / America College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial Infarction. Eur Heart J 2000;21:1502-13.
8. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 24-5.
9. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
10. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. ClinChemLabMed 2007;45(9):1240–1243.

### Vyrobno:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.  
Karásek 1767/1, 621 00 Brno, Česká republika