

UPOTREBA

Reagens se koristi za određivanje aktivnosti kreatin kinaze izoenzima MB (CK-MB) u serumu ili plazmi.

METODA

Kinetička, enzimska, UV spektrofotometrijska metoda.

KLINIČKI ZNAČAJ

CK-MB ima nisku aktivnost u humanom serumu, ali se ona brzo povećava u slučaju nekroze tkiva srčanog mišića. Određivanje CK-MB se koristi kod infarkta miokarda ¹.

PRINCIP ODREĐIVANJA

Princip određivanja se zasniva na merenju aktivnosti kreatin kinaze (CK) u prisustvu antitela na CK-M monomer. Antitela kompletno inhibiraju aktivnost CK-M monomera, dok je aktivnost CK-B subjedinične nepromenjena. Na taj način se određuje samo aktivnost CK-B. Pošto je realna aktivnost CK-MB enzima dva puta veća, faktor za preračunavanje enzimске aktivnosti CK-MB dva puta je povećan u odnosu na faktor za izračunavanje aktivnosti CK^{2,3}.

REAGENSI

CK, Ref: CKM-050 se sastoji od 2 reagensa:

Reagens 1 (Rg.1)	1 x 40 mL
Reagens 2 (Rg.2)	1 x 10 mL

CK, Ref: CKM-125 se sastoji od 2 reagensa:

Reagens 1 (Rg.1)	2 x 50 mL
Reagens 2 (Rg.2)	1 x 25 mL

SASTAV RADNOG REAGENSA

Rg.1	Imidazol acetat pufer pH 6,5	100 mmol/L
	N-acetilcistein	20 mmol/L
	Magnezijum - acetat	10 mmol/L
	Glukoza	20 mmol/L
	EDTA	2 mmol/L
	Diadenozin-pentafosfat	10 mmol/L
	NADP	2 mmol/L
	Heksokinaza	>2500 U/L
Rg.2	Kreatinfosfat	30 mmol/L
	ADP	2 mmol/L
	AMP	5 mmol/L
	G-6-PDH	>1500 U/L
	Anti CK-MM antitela	inhibicija $\geq$ 2KU/L CK-MM

UPOZORENJE

1. Koristiti isključivo za dijagnostiku *in vitro*.
2. Voditi računa o propisanoj eliminaciji otpada. Ako se odbacuje u kanalizaciju, isprati velikom količinom vode.
3. Da bi se izbegla kontaminacija koristiti čist pribor ili laboratorijsku opremu za jednokratnu upotrebu.

PRIPREMA REAGENSA

Start uzorkom : radni reagens se priprema mesanjem 4 zapremine Rg.1 i jedne zapremine Rg.2.

Start supstratom : Reagensi su spremni za upotrebu.

STABILNOST REAGENSA

Start uzorkom : radni reagens stabilan je 14 dana ako se čuva na 2 - 8°C.

Start supstratom : reagensi u originalnom pakovanju su stabilni do isteka označenog roka ako se čuvaju na propisanoj temperaturi.

UZORCI

Kao uzorak koristiti nehemolizovan serum ili plazmu pripremljenu sa heparinom ili EDTA.

Stabilnost : 8 sati na 20-25 °C

8 dana na 4-8 °C

1 mesec na -20 °C.

DODATNI POTREBNI MATERIJALI

Opšta laboratorijska oprema i rastvori

- CK/CK-MB kalibrator

- CK/CK-MB kontrola Ref: CCK-002 1x2 mL

ANALITIČKA PROCEDURA

Analički parametri testa:

Talasna dužina : 1°/2°	340/546 nm
Kiveta :	1 cm
Temperatura :	37° C
Odnos : uzorak / reagens	1 / 25
Reakcija :	Kinetička
Inicijalna A reagensa :	< 0.8 Abs

Start uzorkom - pipetirati u epruvete:

Uzorak	40 μ L
Radni reagens	1000 μ L

Promešati reakcionu smešu i inkubirati 3 minuta na 37°C, izmeriti inicijalnu apsorbanciju (A_0), a zatim meriti promene apsorbancija svakog minuta u toku tri minuta (A_1 , A_2 , A_3) na 340 nm.

Start supstratom - pipetirati u epruvete:

Uzorak	40 μ L
Rg.1	800 μ L

Promešati, a zatim dodati:

Rg.2	200 μ L
------	-------------

Promešati reakcionu smešu i inkubirati 3 minuta na 37°C, izmeriti inicijalnu apsorbanciju (A_0), a zatim meriti promene apsorbancija svakog minuta u toku tri minuta (A_1 , A_2 , A_3) na 340 nm.

KALIBRACIJA

Za kalibraciju koristiti CK/CK-MB kalibrator

Tip kalibracione krive : Linearan

Rekalibraciju vršiti :

- nakon promene serije reagensa

- ukoliko su dobijene vrednosti kontrola izvan prihvatljivog opsega

KONTROLA KVALITETA

Za kontrolu kvaliteta preporučuje se korišćenje kontrolnih seruma.

IZRAČUNAVANJE

$$\Delta A_1 = A_1 - A_0 \quad \Delta A_2 = A_2 - A_1 \quad \Delta A_3 = A_3 - A_2$$

$$\Delta A = (\Delta A_1 + \Delta A_2 + \Delta A_3) / 3$$

$$C = \Delta A \cdot 8254 \text{ (U/L)}$$

Navedena je teorijska vrednost faktora za izračunavanje. Preporuka je da se reagens kalibriše odgovarajućim kalibratorom.

REFERENTNE VREDNOSTI

	30° C	37° C
Normalna aktivnost	< 14 U/L	< 24 U/L
Oštećenje miokarda	> 14 U/L	> 24 U/L

$$\text{CK-MB odnos} = \frac{\text{CK} - \text{MB} \times 100}{\text{Ukupni CK}} \quad \text{normalno 6-25\%}$$

ANALITIČKE KARAKTERISTIKE TESTA

Parametri validacije su izračunati na osnovu rezultata ispitivanja na analizatoru Roche 912.

Opseg merenja

Od 9 do 1000 U/L CK-MB.

Ukoliko je aktivnost CK-MB veća od 1000 UL ($\Delta A > 0,121$), razblažiti uzorak (1+9) sa fiziološkim rastvorom, ponoviti analizu i dobijeni rezultat pomnožiti sa 10.

Limit detekcije (LOD) i limit kvantifikacije (LOQ)

LoD = 2,0 U/L

LoQ = 9,0 U/L

Osetljivost određivanja (S)

$S = A/c = 0,12 \Delta mAbs$ po U/L

Interferencije

Na određivanje CK-MB ne utiču sledeća jedinjenja:

bilirubin $c < 400 \mu\text{mol/L}$ (23,4 mg/dL)

trigliceridi $c < 5,65 \text{ mmol/L}$ (500 mg/dL).

Hemoliza interferira u određivanju CK-MB-a.

Preciznost određivanja

Reproducibilnost unutar serije

Uzorak 1	Xsr = 45,3	Sd = 1,24	KV = 2,74 %
Uzorak 2	Xsr = 185,5	Sd = 3,76	KV = 2,03 %

Reproducibilnost između serija

Uzorak 1	Xsr = 45,3	Sd = 1,61	KV = 3,55 %
Uzorak 2	Xsr = 185,5	Sd = 4,95	KV = 2,67 %

Korelacija

Urađena je komparativna analiza^{4,5} između metode firme BIOANALYTICA i komercijalnog testa druge firme na 45 uzorka humanog seruma. Dobijeni su sledeći parametri :

Linearna regresija

$$y = 1,0032 x + 0,05876$$

$$r = 0,99542$$

LITERATURA

1. Y. Rozenman , M.S. Gotsman, The earliest diagnosis of acute myocardial infarction. Annu Rev Med, 45, 31-44, 1994.
2. B. Štraus, Medicinska Biokemija, Medicinska naklada Zagreb, 1992.
3. N.W. Tietz, Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1986.
4. H. Passing, W.A. Bablok, A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part I. J Clin Chem and Clin Biochem 21(11), 709-720, 1983.
5. W. Bablok H. Passing, R. Bender, B. Schneider. A general regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem and Clin Biochem 26 (11), 783 - 790, 1988



Bioanalytica d.o.o.
Agostina Neta 84/2, Beograd,
Srbija
www.bioanalytica.rs



Bioscience Medical SL
Velazquez 126, 7AB,
Madrid, Spain



Broj rešenja o upisu : _____