



KREATIN KINAZA MB / (CK-MB)

Namjena

Test CK-MB u sustavu i-STAT dijagnostički je test namijenjen kvantitativnom mjerenju mase kreatin kinaze MB u punoj krvi ili plazmi *in vitro*. Mjerenje vrijednosti CK-MB može se rabiti kao pomoć pri dijagnosticiranju i liječenju infarkta miokarda (MI).

Objašnjenje metode

Testni uložak za CK-MB sustava i-STAT upotrebljava imunoenzimsku metodu ELISA s dvije aktivne lokacije (engl. two-site enzyme-linked immunosorbant assay). Antitijela specifična za epitop koji je jedinstven za podjedinicu CK-MB koja se stoga ne povezuje s podjedinicama CK-MM ni CK-BB smještena su na elektrokemijski senzor na silicijskom čipu. Na drugoj lokaciji na silicijskom čipu senzora nalazi se i antitijelo / konjugat enzima alkalne fosfataze specifičan epitop podjedinice B kreatin kinaze. Specifičnost antitijela konjugata za podjedinicu B omogućuje konjugatu prepoznavanje podjedinica CK-MB i CK-BB, ali ne i CK-MM. Uzorak pune krvi ili plazme dovodi se u dodir sa senzorima, što omogućuje otapanje konjugata enzima u uzorku. Alkalna fosfataza označava CK-MB u uzorku koji se potom veže za površinu elektrokemijskog senzora tijekom inkubacijskog razdoblja od približno tri minute. Uzorak se, zajedno s viškom konjugata enzima, ispiri sa senzora. U tekućini za ispiranje nalazi se supstrat za enzim alkalne fosfataze. Enzim, vezan za sendvič antitijelo/antigen/antitijelo cijepa supstrat otpuštajući proizvod cijepanja koji se može otkriti elektrokemijskim putem. Elektrokemijski (amperometrijski) senzor mjeri taj enzimski proizvod koji je proporcionalan koncentraciji tvari CK-MB u uzorku.

Sadržaj

Svaki uložak za CK-MB u sustavu i-STAT opremljena je otvorom za unos uzorka, senzorima koji otkrivaju CK-MB kako je gore opisano i svim reagensima potrebnim za izvođenje testa. Uložak sadrži pufer i konzervanse. Slijedi popis reaktivnih sastojaka:

Reaktivni sastojak	Biološki izvor	Minimalna količina
antitijelo / konjugat alkalne fosfataze	murini IgG : goveđa crijeva	0,013 µg
IgG	kozji IgG: murini IgG	4 µg
natrijev aminofenil fosfat	nije primjenjivo	0,9 mg
heparin	svinjska crijeva	0,45 IU

Mjeriteljska sljedivost

Test kreatin kinaze-MB (CK-MB) u sustavu i-STAT mjeri masenu koncentraciju množine tvari u plazmi ili plazmatskoj frakciji venske pune krvi (mjera ng/mL) za dijagnostičku upotrebu *in vitro*. Vrijednosti kreatin kinaze-MB dodijeljene kontrolama sustava i-STAT sljedive su do rekombinantnog ljudskog CK-MB tvrtke Seradyn Inc. i kalibratora Američkog društva kliničkih kemičara (AACC) za standardizaciju analiza mase kreatin kinaze. Valjanost kontrola i materijala za provjeru kalibracije sustava i-STAT provjereni su samo za upotrebu sa sustavom i-STAT i dodijeljene vrijednosti možda se ne mogu prenijeti u druge metode. Dodatne informacije o mjeriteljskoj sljedivosti dostupne su od tvrtke Abbott Point of Care Inc.

Izveštajni raspon

Test za CK-MB sustava i-STAT izvješćuje u rasponu od 0,0 do 150,0 ng/mL (µg/L). Za uzorke s vrijednostima višim od izveštajnog raspona zaslon analizatora prikazuje „>150,0 ng/mL“.

Referentni raspon

Uzorci pune krvi i plazme naoko zdravih 161 davatelja analizirani su u duplikatu uz upotrebu triju različitih serija uložaka za CK-MB sustava i-STAT. Rezultati raspona od 0 do 95 % kretali su se u rasponu od 0,0 ng/mL (µg/L) do 3,5 ng/mL (µg/L).

Napomena: Svaka bi ustanova trebala ustanoviti vlastiti referentni raspon upotrebom testa CK-MB u sustavu i-STAT.

Klinički značaj

Masa parametra CK-MB smatra se korisnom u dijagnosticiranju infarkta miokarda i ponovnog infarkta te u procjeni ozbiljnosti infarkta.

Kako bi bio maksimalno koristan u dijagnostici, srčani biljeg mora biti specifičan za srčano tkivo, mora se brzo otpuštati u krvotok u količinama koje su izravno proporcionalne stupnju ozljede miokarda te se u krvi mora zadržati dovoljno dugo da bi mogao pružiti prihvatljiv vremenski okvir za dijagnostički postupak.¹

Kreatin kinaza (CK) dimerski je enzim koji se pretežno nalazi u tkivu mozga i mišićnom tkivu. Kreatin kinaza pojavljuje se u obliku tri izoenzima: BB, MM i MB. BB se prvenstveno nalazi u mozgu. Skeletni mišići prvenstveno sadrže izooblik MM i MB u tragovima (procjenjuje se na 1 – 4 % aktivnosti CK). Srčani mišići također prvenstveno sadrže izooblik MM, ali i više količine izooblika MB, većinom približno 20 % aktivnosti CK.² Serum zdravih pojedinaca obično sadrži izooblik MM i malu količinu izooblika MB. CK-MB se u krv može otpustiti zbog više razloga, uključujući ozljede skeletnih mišića i oštećenje miokarda.

Povišena količina izoenzima CK-MB u krvotoku pojavljuje se 4 – 6 sati nakon infarkta miokarda (MI). Nakon približno 24 sata postiže se najviša koncentracija, a vrijednost se na temeljnu razinu vraća tijekom 36 – 72 sata. Budući da razina enzima CK-MB nije specifična za srce, rezultati pojedinačnog testa nisu dovoljna indikacija infarkta miokarda (MI). Infarkt miokarda obično se dijagnosticira na temelju više analiza vrijednosti CK-MB provedenih u intervalima od po 3 sata tijekom 6- do 9-satnog razdoblja ili u intervalima od 6 do 8 sati u 24-satnom razdoblju.

Iako se troponini specifični za srce, troponin I (cTnI) i troponin T (cTnT) smatraju se najboljim biokemijskim biljezima za procjenu akutnih srčanih sindroma (ACS) uključujući infarkt miokarda s povišenjem ST-segmenta, infarkt miokarda bez povišenja ST-segmenta i nestabilnu anginu, CK-MB se također može upotrijebiti kao sekundarni biljeg koji može pomoći pri dijagnosticiranju infarkta miokarda i mjerenju stupnja nekroze miokarda. Budući da se niske razine izoenzima CK-MB mogu otkriti u krvi zdravih osoba, bilo koja vrijednosti CK-MB viša od 95. centila može upućivati na izvjesnu razinu nekroze miokarda.¹ Svaka bi ustanova trebala odrediti referentni raspon za svoju populaciju pacijenata te na temelju njega odrediti prikladnu granicu koja upućuje na akutan infarkt miokarda (AMI).

Dokument suglasnosti Europskog kardiološkog društva (ESC) / Američkog kardiološkog društva (ACC) navodi da za kliničku sliku ponovnog infarkta praćenje izoenzima CK-MB može biti korisnije od praćenja srčanog troponina I (cTnI) ili srčanog troponina T (cTnT) jer razina enzima CK-MB ostaje povišena samo 2 – 4 dana nakon infarkta miokarda, dok cTnI ostaje povišen 5 dana, a cTnT 10 dana.^{3,4,5,6,7} Klinička ispitivanja pokazala su i povezanost stupnja ozljede miokarda (veličina infarkta) nakon infarkta miokarda i povećanja masene koncentracije izoenzima CK-MB u serumu.⁸ Slično tomu, primijećene su značajne korelacije između veličine infarkta procijenjene na temelju izoenzima CK-MB i podataka ehokardiografije lijeve klijetke.⁸

Druga stanja povezana s oštećenjem skeletnih mišića poput nezgoda, tupih trauma, teških opeklin i ekstremne fizičke aktivnosti ili miopatskih poremećaja kao što je miokarditis koji nisu sekundarne pojave ishemijskih bolesti koronarnih arterija također mogu dovesti do ozljede skeletnih mišića ili srčanog mišića te mogu povisiti koncentracije CK-MB u krvi. Pri interpretaciji rezultata ta se stanja trebaju uzeti u obzir, a razinu vrijednosti CK-MB treba povezati s kliničkim simptomima, znacima, povijesti bolesti i promjenama EKG-a.^{1,9}

Radne značajke

Podaci o preciznosti prikupljeni su na različitim lokacijama kako slijedi: duplikati svake kontrolne tekućine ispitivani su svakodnevno tijekom 20 dana sa svakom od tri serije uložaka, dajući ukupno 120 replika. Usrednjeni statistički podaci prikazani su u nastavku.

Podaci o usporedbi metoda prikupljeni su prema smjernici EP9-A2¹⁰ instituta CLSI. Uzorci venske krvi prikupljeni su u heparinizirane epruvete za vakuumsko prikupljanje krvi i analizirani u duplikatu s pomoću sustava i-STAT. Dio je uzorka centrifugiran, a separirana plazma analizirana je u duplikatu u sustavu i-STAT i putem usporedive metode u roku od 1 sata od prikupljanja.

Analiza Demingovom regresijom¹¹ izvršena je na prvoj replici svakog uzorka. U tablici s usporedbom metoda n je broj uzoraka u prvom skupu podataka; Sxx i Syy odnose se na procjene nepreciznosti na temelju duplikata u usporedivim metodama, odnosno metodi i-STAT. Sy.x je koeficijent varijacije regresije; a r je koeficijent korelacije.*

Usporedbe metoda mogu biti različite od lokacije do lokacije zbog razlika u rukovanju uzorcima, kalibracije usporedivih metoda i drugih varijabli specifičnih za svaku pojedinu lokaciju.

Ispitivanja smetnji temeljena su na smjernici EP7-A¹² instituta CLSI.

*Uobičajeno upozorenje povezano s upotrebom regresijske analize ovdje se donosi u sažetom obliku kao podsjetnik, za bilo koji analit: „ako je raspon podataka uzak, procjena regresijskih parametara relativno je neprecizna i može biti pristrana (pokazati odstupanje). Stoga predviđanja koja se temelje na tako dobivenim procjenama možda neće biti valjana”.¹⁰ Koeficijent korelacije r može se upotrijebiti kao smjernica u procjeni prikladnosti raspona usporedive metode kako bi se taj problem nadišao. Raspon podataka može se općenito smatrati odgovarajućim ako je $r > 0,975$.

Podaci o preciznosti (ng/mL)

Plazmatska kontrola	Srednja vrijednost	SD	% CV
Razina 1	5,9	0,7	11,9
Razina 2	25,8	2,7	10,4
Razina 3	90,1	9,0	10,0

Usporedba metoda (ng/mL)

Abbott AxSYM

n	263
Sxx	1,84
Syy	2,66
Nagib	1,01
Int't	-0,19
Sy.x	3,98
Xmin	0,04
Xmax	224
r	0,994

Analitičke osjetljivosti

Osjetljivost metode CK-MB iznosi 0,6 ng/mL, što je najniža razina CK-MB koja se može razlikovati od nule. Analitička osjetljivost definira se kao dva standardna odstupanja povezana s nultim kalibratorom. Za procjenu analitičke osjetljivosti upotrijebljen je kontrolni materijal koji sadrži <1 ng/mL CK-MB tijekom 20-dnevnog ispitivanja preciznosti u kojemu su rabljene tri serije uložaka za CK-MB u duplikatu na skupini od šest analizatora i-STAT 1, dajući ukupno 120 rezultata ispitivanja.

Analitička specifičnost

Metoda CK-MB specifična je za izoenzim kreatin kinazu MB. Ispitani su sljedeći mišićni proteini te je otkriveno da nemaju značajan utjecaj na izmjerenu vrijednost CK-MB.

Križno reaktivna tvar	Koncentracija	Postotak križne reaktivnosti
CK-MM (skeletalni)	10000 ng/mL	ne može se otkriti
CK-BB (mozak)	100 ng/mL	ne može se otkriti

Analitički povrat

Linearnost razrjeđivanja testa CK-MB u sustavu i-STAT ispitana je na uzorcima heparinizirane pune krvi i plazme uzetim od tri različita davatelja. S uzorkom svakog davatelja pripremljen je izvorni negativni uzorak vrijednosti CK-MB i uzorak kojem je dodan (engl. spiking) CK-MB. Tim su postupkom dobivena tri uzorka pune krvi pozitivna na CK-MB koja su poslije analizirana u duplikatu uz upotrebu triju različitih serija uložaka za CK-MB sustava i-STAT. Ti su uzorci pune krvi potom razrijeđeni jednakom masom izvorne pune krvi bez dodatka i analizirane u duplikatu. Iz tih podataka dobivenih iz pune krvi izračunan je analitički povrat za CK-MB.

Plazma navedenih triju davatelja kombinirana je u jednakim masama i svim kombinacijama parova. Te su kombinacije poslije analizirane u duplikatu uz upotrebu triju različitih serija uložaka za CK-MB sustava i-STAT. Analitički povrat vrijednosti CK-MB za svaki par izračunan je upotrebom prosječne vrijednosti tih šest dobivenih rezultata. Postotak analitičkog povrata naveden je u tablicama u nastavku.

Puna krv

Uzorak	Koncentracija (ng/mL)	Razrijeđena koncentracija (ng/mL)	% analitičkog povrata
A	73,24	40,73	108,7 %
B	8,90	6,07	101,5 %
C	47,74	26,91	109,3 %

Plazma

Uzorak	Koncentracija (ng/mL)	Razrijeđena koncentracija (ng/mL)	% analitičkog povrata
A	73,24	—	—
B	8,90	—	—
C	47,74	—	—
A+B	—	42,17	102,7 %
B+C	—	30,85	108,9 %
A+C	—	63,95	105,7 %

Ograničenja testa

Atmosferski tlak utječe na učestalost suprimiranih rezultata. Stope suprimiranih rezultata mogu se povećati na višim nadmorskim visinama (snižen barometarski tlak) te mogu postati perzistentne ako se ispitivanje vrši na nadmorskim visinama većim od 7500 stopa. U slučajevima kad nedostupnost rezultata nije prihvatljiva i-STAT preporučuje mogućnost pristupa alternativnoj metodi testa.

Uzorci pacijenata koji su bili izloženi životinjama ili terapijskim, odnosno dijagnostičkim postupcima koji rabe imunoglobuline ili reagense dobivene iz imunoglobulina mogu sadržavati antitijela, npr. HAMA ili neka druga heterofilna antitijela, koja mogu međudjelovati s imunoanalizama i dati pogrešne rezultate.¹³⁻¹⁹ Postoje izvješća o tome da izlaganje bakterijskim infekcijama može dovesti do generiranja antitijela koja mogu utjecati na rezultate.¹³ Iako ovaj proizvod sadrži reagense koji minimiziraju takve utjecaje i algoritme za kontrolu kvalitete namijenjene otkrivanju takvih efekata, u slučajevima kad postoji nedosljednost u kliničkim informacijama potrebno je pozorno razmotriti mogućnost postojanja smetnji koje uzrokuju pogrešne rezultate.

Djelomično zgrušani uzorci mogu dati povišene vrijednosti CK-MB iznad referentnog raspona, ali i šifre pogrešaka pri provjeri kvalitete. Kako do toga ne bi došlo, po uzimanju uzorka pune krvi u hepariniziranu epruvetu za prikupljanje uzoraka treba nježno preokrenuti najmanje 10 puta kako bi se osiguralo ujednačeno otapanje heparinskog antikoagulansa.

Vidljivo hemolizirani uzorci mogu dovesti do smanjene aktivnosti alkalne fosfataze, što dovodi do niže razine otkrivanja vrijednosti CK-MB, povišenog pozadinskog šuma i/ili generiranja šifri pogrešaka pri provjeri kvalitete.

Hematokriti u rasponu od 0 do 70 % PCV dokazano ne utječu na rezultate. Uzorci s razinom hematokrita višom od navedenog raspona dokazano povećavaju nepreciznost testa i u većoj mjeri generiraju šifre pogrešaka pri provjeri kvalitete.

Tijekom ispitivanja analizator mora ostati na ravnoj površini sa zaslonom okrenutim prema gore. Pomicanje analizatora tijekom ispitivanja može povećati učestalost suprimiranih rezultata ili generiranih šifri pogrešaka. Vodoravna površina obuhvaća i smještanje ručnog uređaja u spojnu jedinicu / punjač.

Ispitivanje smetnji

Utvrđeno je da sljedeće tvari nemaju značajan učinak (niži od 10 %) na metodu mjerenja vrijednosti izoenzima MB kad se dodaju miješanoj plazmi (engl. plasma pool) koja sadrži približno 20 ng/mL kreatin kinaze MB u navedenim koncentracijama

Spoj	Testna razina ($\mu\text{mol/L}$ osim ako je drugačije navedeno)
acetaminofen (paracetamol)	1660
alopurinol	294
ampicilin	152
askorbinska kiselina	227
acetilsalicilna kiselina	3330
atenolol	37,6
kofein	308
kaptopril	23
kloramfenikol	155
diklofenak	169
digoksin	6,15
dopamin	5,87
enalaprilat	0,86
eritromicin	81,6
furosemid	181
natrij heparin	90 U/mL
ibuprofen	2425
izosorbid dinitrat	636
metildopa	71
nikotin	6,2
nifedipin	1156
fenitoin	198
propranolol	7,71
salicilna kiselina	4340
teofilin	222
verapamil	4,4
varfarin	64,9

Reference

1. Braunwald, E, et al. ACC/AHA 2002 guideline update for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients with Unstable Angina). J Am Coll Cardiol 2002., 40: 1366-1374.
2. D.W. Moss, A.R. Henderson, "Enzymes" in Tietz Textbook of Clinical Chemistry – Second Edition, C.A. Burtis and E.R. Ashwood, eds. (Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1994.).
3. Apple FS, Murakami MA. Cardiac Troponin and Creatine Kinase MB Monitoring during In-Hospital Myocardial Reinfarction, Clin Chem 2005., 51(2): 460-463.
4. Braunwald E, Antman EM, Beasley JW, Califf RM, Cheitlin MD, Hochman JS, et al. ACC/AHA guidelines for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction. J Am Coll Cardiol 2000., 36: 970-1062.
5. Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee. Myocardial infarction defined – a consensus document of the joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. J Am Coll Cardiol 2000., 36: 959-969.
6. Jaffe AS, Ravkilde J, Roberts R, Naslund U, Apple FS, Galvani M, et al. It's time for a change to a troponin standard. Circulation 2000., 102: 1216-1220.
7. Newby LK, Alpert JS, Ohman EM, Thygesen K, Califf RM. Changing the diagnosis of acute myocardial infarction: implications for practice and clinical investigations. Am Heart J 2002., 144: 957-980.
8. Apple FS, Sharkey SW, Falahati A, Murakami MA, Mitha N, Christensen D. Assessment of left ventricular function using serum cardiac troponin I measurements following myocardial infarction. Clinica Chimica Acta 1998., 272: 59-67.
9. A.S. Maisel, "Point-of-Care Diagnosis and Management of Myocardial Infarction and Congestive Heart Failure" in Principles & Practice of Point-of-Care Testing, G.J. Kost, ed. (Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002.).
10. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline – Second Edition*. CLSI document EP9-A2 [ISBN 1-56238-472-4]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA 2002.
11. P.J. Cornbleet and N. Gochman, "Incorrect Least-Squares Regression Coefficients in Method-Comparison Analysis," Clinical Chemistry 25:3, 432 (1979.).
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) *Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline*. CLSI document EP7-A [ISBN 1-56238-480-5]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA 2002.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Immunoassay Interference by Endogenous Antibodies; Proposed Guidelines*. CLSI document I/LA30-P (ISBN 1-56238-633-6) Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2007.
14. Bjerner et al. Immunometric Assay Interference: Incidence and Prevention. Clin. Chem. 2002.; 48:613.
15. Kricka, Interferences in Immunoassays - Still a Threat. Clin. Chem. 200.; 46:1037.
16. Schroff et al. Human anti-murine immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. Cancer Res. 1985.; 45:879.
17. Primus et al. "Sandwich"-type immunoassay of carcinoembryonic antigen in patients receiving murine monoclonal antibodies for diagnosis and therapy. Clin. Chem. 1988.; 34-261.
18. Nahm et al. Heteroantibody: phantom of the immunoassay. Clin. Chem. 1990.; 36:829.
19. Boscato et al. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem. 1988.; 34:27.

i-STAT is a trademark of the Abbott group of companies.



Abbott Point of Care Inc.
Abbott Park, IL 60064 • SAD



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
Nizozemska



©2018. Abbott Point of Care Inc. Sva prava pridržana. Tiskano u SAD-u